Tome 72, nº 39. — Décembre 1965

Untersuchungen über die Entwicklung der dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea pernyi Guer.* *(Lepidoptera)*

von

Rainer EIGENMANN
Zoologische Anstalt der Universität Basel

Mit 28 Textabbildungen

INHALT

1. Einleitung 790
2. Material und Methode 791
3. Bau des imaginalen Muskels
   A. Anatomie 792
   B. Histologie 794
4. Bau des Diapausemuskels
   A. Anatomie 796
   B. Histologie 797
5. Die Herkunft der Myoblasten 798
6. Entwicklung der dorsolongitudinalen Flugmuskeln
   A. Bei Tieren mit Diapause
      a) *Anatomie* 803
      b) *Histologie* 807
   B. Bei Tieren ohne Diapause
      a) *Anatomie* 815
      b) *Histologie* 816
   C. Kennzeichen des Histogeneseverlaufes. 817

7. Diskussion der Ergebnisse
A. Amitosen und Kernreihenbildung 819
B. Typus der Flugmuskeln von Antheraea pernyi 820
C. Vergleich mit den Muskeln anderer Insekten 821
8. Biochemie der Flugmuskelentwicklung
A. Methoden
a) *Extraktion von Aktomyosin* 823
b) *Viskositätsmessung* 823
B. Resultate 825
C. Diskussion der Ergebnisse 832
9. Zusammenfassung 835
10. Literaturverzeichnis 838

1. EINLEITUNG

Über Struktur und Entwicklung der Insektenflugmuskeln wurde schon sehr viel gearbeitet. Untersuchungen über die Muskelphysiologie, vor allem aber die Arbeit von Nüesch (1962) „Zur Entwicklung der Muskelfunktion" deckten neue Gesichtspunkte auf, sodass sich eine Nachprüfung der Muskelentwicklung aufdrängte. Es ergab sich die Notwendigkeit einer genauen Kenntnis mancher struktureller Einzelheiten der verschiedenen Entwicklungsstadien, zudem aber auch der Wunsch, einiges über die Muskelentwicklung von der Seite der Biochemie zu erfahren.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, an den dorsolongitudinalen Flugmuskeln einer Saturniide den Differenzierungszustand für die verschiedenen Entwicklungstage festzustellen, um damit eine Grundlage für die Beurteilung der Muskelfunktion zu schaffen. In einem zweiten Teil wurde ausserdem das Auftreten des Muskelproteins Aktomyosin qualitativ geprüft, das nach Reichel (1960) das Substrat der Muskelkontraktion darstellt.

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung von Herrn Professor Dr. H. Nüesch. Meinem verehrten Lehrer danke ich recht herzlich für die wertvollen Anregungen und das Interesse, das er meinen Untersuchungen stets entgegenbrachte. Mein Dank gilt auch Frau Prof. Dr. H. Portzehl (physiologisches Institut, Bern), die mir in zuvorkommender Weise ihre Erfahrungen über Aktomyosin mitteilte.

2. MATERIAL UND METHODE

Als Untersuchungsobjekte für die histologische Bearbeitung der Muskelentwicklung dienten Puppen und Imagines von *Antheraea pernyi*, dem chinesischen Nachtpfauenauge. Diese Art aus der Familie der Saturniiden ist sehr leicht züchtbar, ein Vorteil, der vor allem für den Materialbedarf bei den biochemischen Untersuchungen ins Gewicht fiel. Da über die Art *Antheraea polyphemus* schon einige Angaben publiziert sind und an dieser Art vor allem auch die Funktionsentwicklung durchgeführt wurde (Nüesch, 1962), wurde die Muskelentwicklung bei *A. polyphemus* vergleichsweise studiert. Die biochemischen Untersuchungen betreffen ausschliesslich *A. pernyi*.

Die Metamorphose von der Larve zur geschlechtsreifen Imago kann auf zwei verschiedene Arten erfolgen. Die Entwicklung setzt entweder sofort nach der Verpuppung ein (Entwicklung ohne Diapause) oder auf die Verpuppung folgt eine mindestens 10 Wochen dauernde Diapause. Welcher Entwicklungsmodus eingeschlagen wird, hängt nach Tanaka (1950, zit. nach Lees, 1955, S.15), von der Belichtungsdauer während der Larvenzeit ab. Bei einer täglichen Belichtung von 16-24 Stunden oder aber bei dauernder Dunkelheit entwickeln sich die Tiere ohne Diapause. Dies ist in der freien Natur bei der Frühjahrsgeneration verwirklicht. Dagegen schaltet die von der Frühjahrsgeneration erzeugte Sommergeneration normalerweise eine Diapause ein. Diapausepuppen erhält man auch durch eine tägliche Belichtungszeit von 6-12 Stunden. In beiden Fällen benötigt die Differenzierung der Imago 21 Tage.

Beim Verfolgen der morphologischen und histologischen Entwicklung der Muskeln, sowie für genau datierte biochemische Untersuchungen ist eine genaue Kenntnis des Entwicklungsalters der Puppen notwendig. Für die Altersbestimmung verwendete ich die Zeittabelle von *A. polyphemus* (Nüesch, 1965), die im grossen und ganzen auch für *A. pernyi* gilt. Nur für die ersten fünf Entwicklungstage[1] kann die Tabelle nicht verwendet werden, da die enfängliche Entwicklung der Genitalorgane bei beiden

[1] Entwicklungstage werden in dieser Arbeit nur mehr als Tage bezeichnet, z.B.: 9. Tag = 9. Entwicklungstag = 9. Tag nach Beginn der Imaginalentwicklung.

Arten verschieden verläuft. Diese ersten Entwicklungsstadien fixierte ich in 24-stündigem Rhythmus nach Entwicklungsbeginn, der nach meiner Erfahrung nach einer 10-wöchigen Diapause bei 4° C im Kühlschrank 1 Tag nach der Entnahme aus dem Kühlschrank und Aufbewahrung im Thermostat bei 24° C eintritt.

Sämtliche Objekte für die anatomische Präparation und die histologischen Schnittserien wurden im Pikrinsäure-Alkohol-Gemisch in der Modifikation von Bouin-Duboscq fixiert. Die histologischen Präparate wurden nach der Methylbenzoat-Celloidin-Methode nach Peterfi in Paraffin übergeführt. Die Schnittdicke beträgt 7-10 μ.

Alle histologischen Präparate wurden mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbt. Zur Auszählung der Muskelkerne von adulten Muskelfasern stellte ich Totalpräparate von Muskelfasern her, die ich mit Eisenhämatoxylin nach Weigert ganz schwach anfärbte. Dadurch wurde erreicht, dass sich die Kerne vom übrigen Muskelgewebe gut abzeichneten.

Die Darstellung der histologischen Strukturen erfolgte mit Hilfe des Zeichentubus „Wild Heerbrugg". Alle Zeichnungen sind in gleicher Vergrösserung (910 ×) wiedergegeben, um den Vergleich der einzelnen Entwicklungszustände zu erleichtern.

Die bei den biochemischen Untersuchungen angewandten Methoden werden in Kapitel 8 (Seite 822) beschrieben.

3. BAU DES IMAGINALEN MUSKELS

A. Anatomie

Die dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea pernyi* sind sehr stark ausgebildet und füllen die mediane Hälfte des Mesothorax. Wie bei *A. polyphemus* (Nüesch, 1953) ist der Muskel des Mesothorax in fünf Bündel unterteilt, die sich deutlich voneinander abgrenzen. Die Insertionsstellen, wie sie für *A. polyphemus* beschrieben sind, gelten auch für *A. pernyi*: Das ventralste Muskelbündel a entspringt am Phragma I des Mesothorax, Bündel *b* am Praescutum und die Bündel *c*, *d* und *e* am Scutum des Mesothorax. Alle fünf Bündel inserieren am Phragma II und am Postnotum des Mesothorax.

Die einzelnen Bündel sind verschieden gross, wie dies aus Abbildung 1 ersichtlich wird. Diese Tatsache verdeutlicht auch eine Auszählung der Muskelfasern der einzelnen Bündel, die an einem

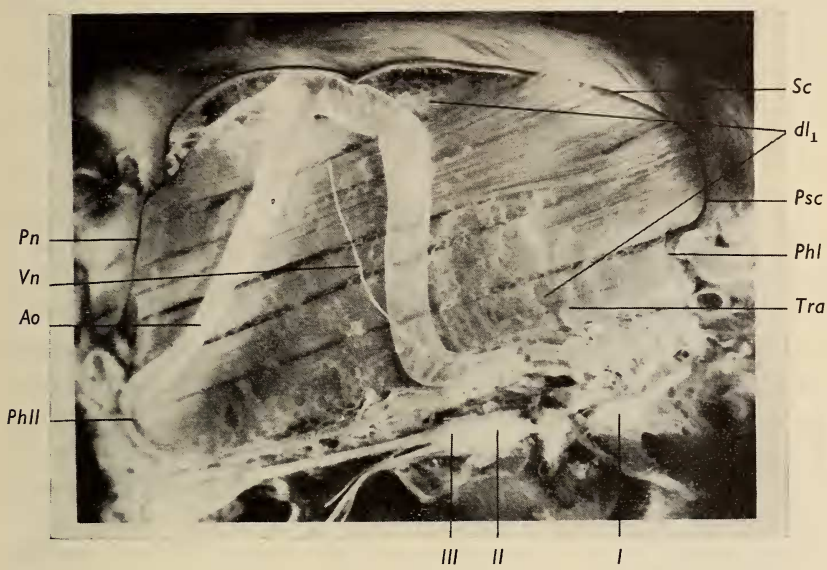

Abb. 1.
Dorsolongitudinaler Flugmuskel, rechte Hälfte des Mesothorax einer Imago. Vegr. 9,55 ×.
Ao = Aorta, dl_1 = dorsolongitudinaler Flugmuskel, Ph = Phragma, Pn = Postnotum, Psc = Praescutum, Sc = Scutum, Tra = Tracheengeflecht, Vn = Vorderflügelnerv II N 1b, I, II, III = Thoraxganglien.

mittelgrossen Tier vorgenommen wurde. Bündel a enthielt hier 414, b 427 und c 458 Muskelfasern, Bündel d ist mit 699 Muskelfasern am stärksten ausgebildet. Das dorsalste Muskelbündel e setzte sich aus 458 Muskelfasern zusammen. Die Zahl der Fasern in Bündel d mag gegenüber den Werten der übrigen Bündel etwas hoch erscheinen, doch muss man die grössere Ausdehnungsmöglichkeit in lateraler Richtung in Betracht ziehen. Die dorsoventralen Muskeln verlaufen von dorsolateral nach ventral-median. Die Gesamtfaserzahl pro Hälfte eines Mesothorax von *A. pernyi* beträgt somit 2450 Fasern. Für *A. polyphemus* gibt Nüesch (1957b) als

Mittel von acht Tieren 2354 Muskelfasern an in der Variationsbreite von 1809-2947. Wegen dieser guten Übereinstimmung unterliess ich weitere Auszählungen.

Die Innervation der dl-Muskeln erfolgt durch die Äste des Vorderflügelnerves II N 1 b, also den gleichen Nerven, den Nüesch (1957a) an *Antheraea polyphemus* beschrieb.

B. Histologie

In den Schnittserien durch adulte dl-Muskelfasern können folgende Merkmale festgestellt werden: Die einzelnen Muskelfasern weisen bei 50 Messungen einen mittleren Durchmesser von 44,25 μ auf, die Extremwerte liegen bei 29,1 μ und 69,9 μ. Eine Muskelfaser ist aus ca. 980 Myofibrillen aufgebaut, die Werte schwanken zwischen 804 und 1072 (n = 25). Die Berechnung der durchschnittlichen Myofibrillenzahl einer Muskelfaser erfolgte durch Auszählung der Fibrillen eines Muskelfaserquerschnittes. Das ergab, um ein Beispiel anzuführen, 991 Myofibrillen. Da die Myofibrillen ziemlich regelmässig über den Querschnitt der Muskelfaser verteilt sind, zählte ich aus fünf verschiedenen Fasern die Zahl der Myofibrillen pro Flächeneinheit (1cm², Vergr. 1300 ×) aus und mittelte die erhaltenen Werte. Dies ergab 28 Myofibrillen pro Flächeneinheit. Die Fläche der ersten Muskelfaser mit 991 Myofibrillen wurde nun mit einem Planimeter ausgemessen; sie betrug 35,4 cm². Multipliziert man die gemittelten 28 Myofibrillen pro Flächeneinheit mit der Gesamtfläche von 35,4 cm², so erhält man dasselbe Resultat von 991 Myofibrillen, wie dies durch Auszählung der Fibrillen für diese Faser erhalten wurde. Da Auszählung und Berechnung die gleichen Werte ergaben, mass ich 25 verschieden grosse Muskelfaserquerschnitte planimetrisch aus und berechnete daraus die Zahl der Myofibrillen.

Die vielkernigen Muskelfasern sind von einem Sarcolemm eingehüllt. Zur Berechnung der Gesamtkernzahl einer Muskelfaser wurden nach Weigert gefärbte Totalpräparate von einzelnen Fasern verwendet. Pro Masseinheit (50 · 11,67 μ) besitzen die Muskelfasern der Muskelbündel a-e im Durchschnitt 100 Kerne mit Extremwerten von 86-120 Kernen pro Einheit. Berechnet man aus

der Kernzahl der Masseinheit die Gesamtkernzahl nach der Länge der einzelnen Fasern, so erhält man für Fasern der Bündel a, b, c und d ungefähr 1600 Kerne pro Faser mit Extremwerten von 1450-1830. Dagegen besitzen die Fasern des Bündels e durchschnittlich nur 900 Kerne. Entsprechend der Lage im dorsalen Scutumgebiet setzt sich das Bündel e aber auch aus kürzern Fasern zusammen. Die durchschnittliche Kernzahl unter Berücksichtigung der Länge der Muskelfasern beträgt für die Bündel dl_{1a-d} 3 196 800 und für das Bündel dl_{1e} 412 200 Kerne. Als Gesamtkernzahl aller dl-Muskelfasern einer Thoraxhälfte ergibt sich somit eine Zahl von etwa 3 600 000 Kernen.

Jede Myofibrille ist in ihrer Längsachse in Sarcomeren unterteilt, die eine durchschnittliche Länge von etwa 3,5 μ aufweisen. Zwei Drittel der Sarcomerenlänge entfallen auf das Q- (A-) Band, die Hensensche Mittelscheibe miteingerechnet, und ⅓ auf die beiden I-Bänder. Das I-Band ist im adulten, dorsolongitudinalen Flugmuskel von *A. pernyi* deutlich durch eine N-Linie unterteilt. Die Hensensche Mittelscheibe dagegen weist keine M-Linie auf (Abb. 2). Daraus ergibt sich für A. pernyi folgendes Sarcomerenbild: Z-I-N-I-Q-H-Q-I-N-I-Z. Jede Muskelfaser zerfällt in ihrem Querschnitt in einzelne Myofibrillen, die einen Durchmesser von ca. 0,3 μ besitzen. Ein Querschnitt durch die dl-Muskeln unseres Schmetterlings zeigt, dass sämtliche Muskelkerne an der Faserperipherie direkt unter dem Sarcolemm liegen. Die Myofibrillen sind gleichmässig über den Faserquerschnitt verteilt. Diese Merkmale lassen die dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *A. pernyi* dem von Pringle (1957) als „close-packed" beschriebenen Muskeltyp zuordnen. Im Gegensatz zu Muskelfasern von Coleopteren, Homopteren, Dipteren und Hymenopteren enthalten die Muskelfasern der Lepidopteren (Antheraea) keine Sarcostylen.

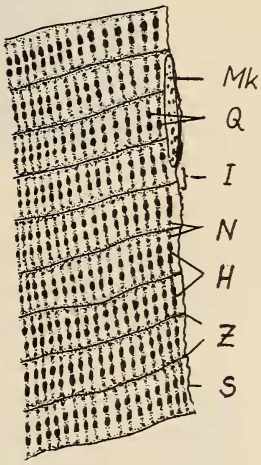

Abb. 2.
Längsschnitt durch eine Muskelfaser des dorsolongitudinalen Flugmuskels einer Imago: *N*-Linie deutlich erkennbar. Vergr. 910 ×. H = Hensensche Mittelscheibe, I = I-Band, Mk = Muskelkern, N = N-Linie, Q = Q-Band (A-Band), S = Sarcolemm, Z = Z-Membran.

4. BAU DES DIAPAUSEMUSKELS

A. Anatomie

Während die imaginalen dl-Muskeln des Mesothorax von *Antheraea* deutlich in fünf Bündel dl_{1a-e} unterteilt sind, die bei einem median geführten Längsschnitt an der Oberfläche liegen, ist die

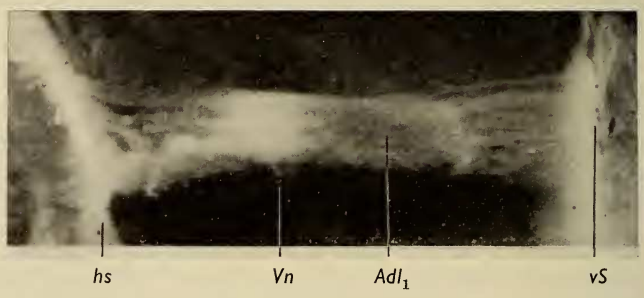

Abb. 3.

Anlage des dl-Flugmuskels, linke Hälfte des Mesothorax einer Diapausepuppe. Vegr. 11,2 ×.
Adl_1 = Anlage des dl-Flugmuskels, hS = hintere Segmentgrenze, vS = vordere Segmentgrenze, Vn = Vorderflügelnerv II N 1 b.

Muskelanlage in einer Diapausepuppe viel weniger auffällig. Schneidet man den Thorax einer Diapausepuppe sagittal in zwei Hälften, so befinden sich keine Muskeln an der medianen Oberfläche. Vorerst müssen reichliche Fettkörpermassen (ungefähr 2-3 mm tief) entfernt werden, bis die sehr feine Muskelanlage zum Vorschein kommt (Abb. 3). Sie liegt lateralwärts verschoben im Thoraxraum und erstreckt sich als feiner Schleier von Segmentgrenze zu Segmentgrenze. Die Phragmata als Ansatzstellen der imaginalen Muskulatur fehlen noch. In der Länge ist die Anlage durch die Segmentgrenzen auf ca. 6 mm begrenzt; sie weist eine Höhe von ca. 0,9 mm auf. Noch etwas undeutlich und verschwommen zeigt sich an den vorderen und hinteren Ansatzstellen die spätere Aufteilung in die fünf Muskelbündel. Wenig hinter der Mitte, in der Umgebung der Eintrittsstelle des Nerves II N 1 b, ist die Muskelanlage noch nicht durchgegliedert und etwas verdickt. Die Innervation erfolgt durch den gleichen Nerv wie bei der Imago. Seine feinen Verästelungen bilden schon

in der Diapausepuppe fünf Gruppen (NÜESCH, 1955), die wohl der späteren Aufteilung in die fünf Muskelbündel entsprechen.

B. Histologie

Die larvalen Muskeln werden in der Zeit der Vorpuppe und in den ersten Tagen der nach Verpuppung abgebaut. Die Diapause-

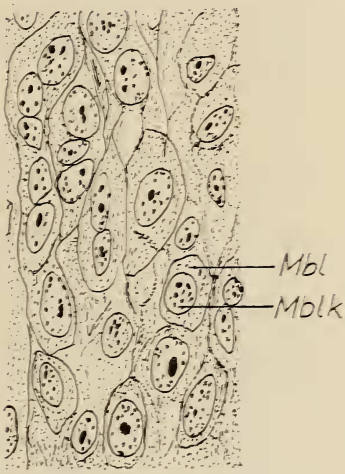

Abb. 4.
Längsschnitt durch das myoblastische Anlagegewebe eines dl-Flugmuskels einer Diapausepuppe. Vegr. 910 ×.
Mbl = Myoblasten, Mblk = Myoblastenkerne.

puppe enthält keine larvalen Muskeln mehr. Von den eben beschriebenen imaginalen dl-Muskeln sind in der Diapausepuppe nur sehr dünne Stränge von Myoblasten vorhanden.

Abbildung 4 zeigt deutlich, dass die Kerne beträchtliche Grössenunterschiede aufweisen. Ziemlich häufig liegen auch zwei, drei oder mehr Kerne im gleichen Plasmabereich. Ob es sich dabei immer um mehrkernige Zellen handelt, oder ob die Zellgrenzen im histologischen Bild nur nicht sichtbar sind, möchte ich nicht entscheiden.

Eine annähernde Schätzung der Kernzahl ergibt in diesem Stadium der beginnenden Entwicklung rund 35 000 Kerne in der dl-Muskelanlage einer Thoraxhälfte.

Zur Berechnung der Kernzahl wurden die Kerne eines 7 μ dicken Schnittes ausgezählt und die Fläche des Schnittes mit Hilfe eines Planimeters ausgemessen. Bei 1300-facher Vergrösserung trifft es auf 3,9 cm^2 1236 Kerne. Alle 28 Längsschnitte zu 7 μ durch die Muskelanlage wurden mit dem Planimeter ausgemessen, was eine Totalfläche von 108,9 cm^2 ergab. Berechnet man aus diesen Angaben die Kernzahl für diese Fläche, in der Annahme, jeder 7 μ dicke Schnittstelle eine Kernschicht dar, so ergibt dies rund 34 500 Kerne pro dl-Muskelanlage einer Thoraxhälfte. Diese Kernzahl stellt einen Minimalwert dar, da nicht alle Myoblasten einen Durchmesser von 7 μ aufweisen.

5. DIE HERKUNFT DER MYOBLASTEN

In einer Diapausepuppe stellt die Muskelanlage, wie dies oben besprochen wurde, eine Anhäufung von Myoblasten dar, die im Innervationsbereich wenig hinter der Mitte der Stränge als helle, kompakte Zone besonders deutlich sichtbar ist (siehe Abb. 3). Im folgenden wird die Herkunft der Myoblasten der imaginalen Muskelanlage an Tieren beschrieben, die die Imaginalentwicklung ohne Diapause sofort nach der Verpuppung beginnen.

Schon in einer *pernyi*-Raupe, die sich gerade in den Kokon eingesponnen hat, also zu Beginn der Vorpuppenzeit, zeigen die larvalen, dorsolongitudinalen Muskeln Degenerationserscheinungen. Einzelne Muskelfasern beginnen sich autolytisch aufzulösen. Am Rande anderer Muskelfasern bilden sich plasmatische Ausbuchtungen mit je einem Kern, die sich später als Myoblasten von den Fasern ablösen werden. In den Muskelfasern der eben eingesponnenen Raupe können folgende drei Sorten von Kernen beobachtet werden (Abb. 5):

a) In der Fasermitte liegen lange, schmale und helle Kerne.

b) Am Faserrand befinden sich zum Teil lange, chromatinreiche Kerne und

c) länglich ovale, kleine, chromatinreiche Kerne, die grösstenteils in Reihen angeordnet sind.

Die hellen, langen und schmalen Kerne der Fasermitte *(a)* werden im Verlaufe der Faserdegeneration immer weniger zahlreich

und können da und dort in amitotischer Teilung beobachtet werden. An ihrer Stelle befinden sich dann kleinere, helle Kerne, die wohl das Resultat der Amitosen darstellen. HUFNAGEL (1918) konnte zwar

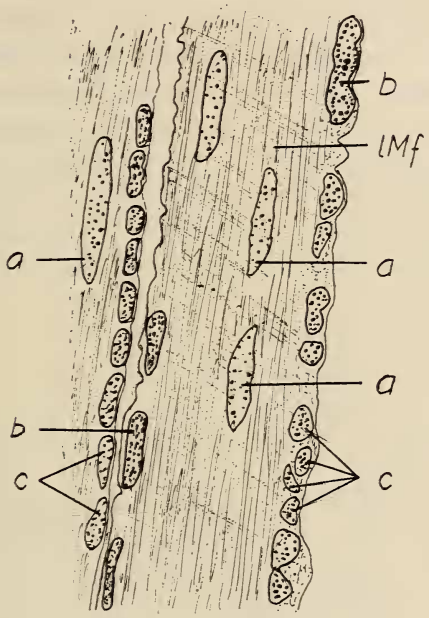

Abb. 5.

Larvale Muskelfaser des dl-Muskels kurz nach dem Einspinnen der Raupe in den Kokon. Vegr. 910 ×.
a = lange, helle Kerne in der Fasermitte,
b = lange, chromatinreiche Kerne am Faserrand,
c = kleine, chromatinreiche Kerne am Faserrand,
lMf = larvale Muskelfaser.

bei den „ muscles à évolution tardive " amitotische Teilungen nachweisen, nicht so deutlich aber bei den „ muscles à évolution précoce ", zu denen der dorsolongitudinale Flugmuskel gehört.

Die langen, chromatinreichen Kerne am Faserrand *(b)* dürfen wohl kaum mit den von HUFNAGEL (1918) beschriebenen grossen, larvalen Kernen gleichgesetzt werden, die bedeutend chromatinreicher zu sein scheinen als die von mir beobachteten Kerne *(b)*. Diese lassen in den verschiedenen Degenerationsstadien recht häufig

Amitosen erkennen und teilen sich auf diese Weise in die länglich ovalen, kleinen und chromatinreichen Kerne, die grösstenteils in Reihen am Fasserrand angeordnet sind *(c)*. Die Teilungen der grossen Kerne am Faserrand setzen bereits ein, bevor die Raupe ins Vorpuppenstadium eintritt.

In einer weiter fortgeschrittenen Degeneratiosphase sind sowohl in der Fasermitte als auch an ihrem Rand nurmehr relativ kleine Kerne zu beobachten: die einen, aus den *(a)*-Kernen entstandenen etwas heller, die andern, die aus den chromatinreichen grossen *(b)*-Kernen hervorgegangen sind, etwas dunkler. Diese kleinen Kerne umgeben sich, je weiter die Degeneration der larvalen Muskelfaser fortschreitet, mit einem Plasmamantel. Aus den larvalen Muskelfasern werden nun portionenweise Myoblasten freigegeben.

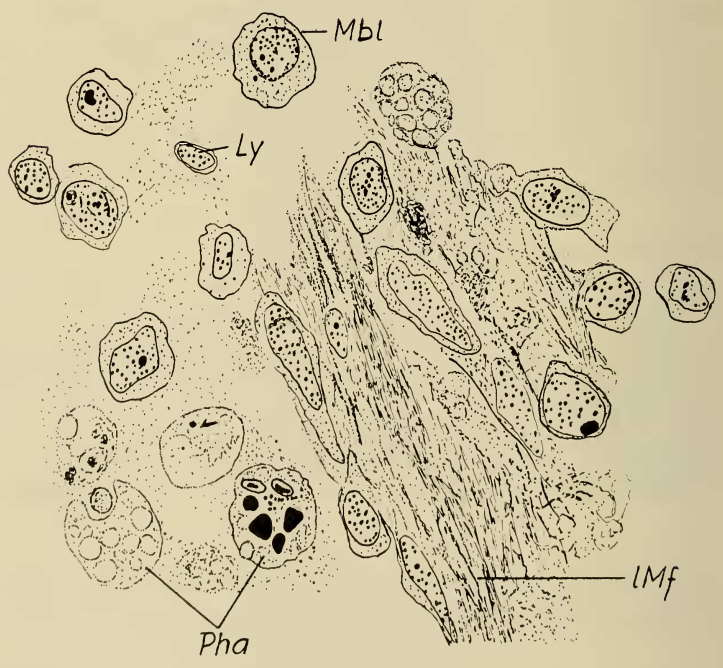

Abb. 6.

Schnitt durch das Anlagegewebe in der Vorpuppe (zwei Tage vor Verpuppung). Vergr. 910 ×.
lMf = larvale Muskelfaser, Ly = Lymphozyten, Mbl = Myoblasten, Pha = Phagozyten.

Während der ganzen Degenerationsphase der larvalen Muskeln konnte ich nirgends pyknotische Kerne auffinden. Das dürfte darauf hindeuten, dass das gesamte Kernmaterial der larvalen Muskelfasern bei deren Degeneration erhalten bleibt. Diese Kerne umgeben sich mit einem Plasmamantel, der ebenfalls aus der larvalen Muskelfaser stammt. Von den larvalen Muskelfasern, den einst funktionstüchtigen, quergestreiften Muskeln, bleiben somit nur noch die Kerne und das Myoplasma übrig. Die einzelnen Kerne und das zu ihnen gehörige Myoplasma bilden die Myoblasten, Zellen mit der Fähigkeit, imaginale Muskeln aufzubauen, während die larvalen Myofibrillen abgebaut werden. Für den Aufbau der imaginalen Muskeln wird also das Material der larvalen dl-Muskeln (Kerne und Myoplasma) verwendet. Diese Verwendung bestätigt die Feststellung von Hufnagel (1918), dass „ in der Metamorphose von *Hyponomeuta* nebst andern imaginalen Muskeln auch die Flugmuskeln („ muscles thoraciques à évolution précoce “) durch Umgestaltung larvaler Muskeln gebildet werden “.

In der Umgebung der zukünftigen Muskelanlage befinden sich verschiedene Zellsorten zwischen larvalen Muskelfasern und dem imaginalen Anlagegewebe: Noch freie Myoblasten mit ziemlich grossem Plasmamantel um den relativ grossen Kern, kleine plasmaarme Lymphozyten und voluminöse Phagozyten (Abb. 6).

Die Phagozyten bauen, wie dies schon Hufnagel (1918) erwähnt, die larvalen Muskelfasern ab und nehmen deren verschiedene Abfallstoffe auf. Die verdauten Stoffe werden ans Blut abgegeben und können von den wachsenden Geweben erneut zum Aufbau verwendet werden (Wigglesworth, 1953).

Abb. 7 zeigt, wie sich die portionenweise aus den larvalen Muskelfasern frei werdenden Myoblasten mehr oder weniger deutlich zu Gruppen ordnen. Der myoblastischen dl-Muskelanlage (im Bilde links dargestellt) schliessen sich die freien Myoblasten an. Zur schon in geringem Masse aufgebauten dl-Muskelanlage stossen also aus benachbarten, sich auflösenden, larvalen Muskelfasern immer neue Myoblasten.

Nach Hufnagel (1918) dringen die Myoblasten zwischen die larvale Muskelfaser ein und rufen deren Spaltung hervor. Während der ganzen Umbildung der larvalen dl-Muskeln von *Antheraea* in die imaginale dl-Muskelanlage konnte ich nirgends auch nur ein Anzeichen dafür finden, dass imaginale Zellen einen larvalen Muskel

umwandeln, indem sie in diesen eindringen. Im Gegenteil, die imaginalen Zellen (Myoblasten) entstehen aus den Kernen und dem Plasma der degenerierenden larvalen Muskelfaser, indem sie sich von dieser gruppenweise loslösen.

Abb. 7.

Abwanderung von Myoblasten aus degenerierenden larvalen Fasern zu schon vorhandenem myoblastischem Anlagegewebe. Verpuppungstag (Entwicklung ohne Diapause). Vergr. 910 ×.
Fk = Fettkörperzelle, iMa = imaginale Muskelanlage, lMf = larvale Muskelfaser, Mbl = Myoblasten.

Die Herkunft der Myoblasten bei Tieren mit Diapause wurde nicht untersucht. Es ist jedoch anzunehmen, dass die myoblastische Muskelanlage der Diapausepuppe ebenfalls durch Umgestaltung larvaler Muskeln entsteht, mit dem Unterschied zur Entwicklung ohne Diapause, dass die Umwandlungsprozesse mit Erreichen der myoblastischen Anlage stehen bleiben.

6. ENTWICKLUNG DER DORSOLONGITUDINALEN FLUGMUSKELN

A. Bei Tieren mit Diapause

a) *Anatomie*

Im Verlauf der ersten Entwicklungstage der Imago gliedern sich die einzelnen Stränge des dl-Flugmuskels von *Antheraea pernyi* immer deutlicher gegeneinander ab. Bis zum Ende des 4. Tages ist die Gliederung auch im Gebiete des eintretenden Nerven in die fünf Stränge dl_{1a-e} vollzogen, an dieser Stelle jedoch immer noch am undeutlichsten. Die Muskelmasse nimmt vom vierten Tag an deutlich an Grösse zu (Abb. 8). Die fünf Stränge liegen noch eng aneinander, nur der fünfte hebt sich an der hintern Insertionsstelle vom Strang dl_{1d} leicht ab.

Als Mass für die Vergrösserung der Muskelmasse benutzte ich die Gesamthöhe der Muskelanlage in dorsoventraler Richtung. Die Länge der Muskeln ändert sich während der Imaginalentwicklung kaum mehr, da die Grösse des Thorax bei der Verpuppung endgültig festgelegt wird.

Die Ansatzstellen bleiben bis zum 4. Tag im wesentlichen die gleichen wie in der Diapausepuppe: Die Muskeln erstrecken sich von einer Segmentgrenze des Mesothorax zur andern. Von diesem Tag an wird anstelle des Ausdrucks „Muskelstränge" Muskelbündel gebraucht, da nun, wie sich zeigen wird, schon Muskelfasern gebildet sind.

In den nächsten zwei Tagen, bis zum 6. Tag, nehmen die Muskelbündel an Höhe nur wenig zu, dagegen vollzieht sich die klare Trennung der fünf Muskelbündel (Abb. 9). Während die Bündel *a*, *b* und *c* mit ihren Ansatzstellen allmählich gegen die Mediane gehoben werden, verschieben sich *d* und *e* dorsalwärts in den Bereich des Scutum. Diese Verlagerungen hängen mit der Ausgestaltung des Tergiten und seiner Phragmen zusammen. Der durch das Auseinanderweichen der Bündel entstandene Raum wird sofort durch den Fettkörper ausgefüllt, der nun jedes Muskelbündel umhüllt. Im fixierten Tier lässt sich der Fettkörper relativ leicht von den Muskelbündeln wegpräparieren, im lebenden Tier jedoch ist er nur schwer von ihnen zu trennen.

Am 7. Tag beginnt das vordere Phragma I des Mesothorax ventralwärts auszuwachsen und zieht die Muskelbündel *a* und *b* mit sich, während die hintern Insertionsstellen der Muskeln noch unverändert bleiben. Gegenüber dem Vortag gewinnen die Bündel nur wenig an Höhe. Diese beträgt für die Gesamtmuskelmasse etwa 1,2 mm.

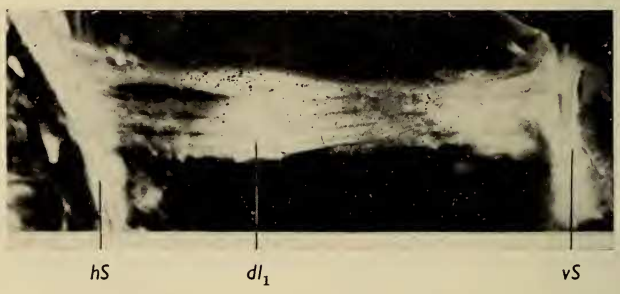

Abb. 8.

dl-Flugmuskel, linke Hälfte des Mesothorax. 4. Tag. Gliederung in fünf Muskelbündel vollzogen. Vergr. 10,2 ×.
dl_1 = dorsolongitudinaler Flugmuskel, hS = hintere Segmentgrenze, vS = vordere Segmentgrenze.

Bis zum 9. Tag erreichen die dorsolongitudinalen Flugmuskeln ihre definitive mediane Lage im Mesothorax. Während des 8. und 9. Tages nehmen die Muskelbündel bedeutend an Umfang zu. Die totale Höhe aller Bündel verdoppelt sich gegenüber dem 7. Tag und beträgt am 9. Tag nahezu 2,5 mm.

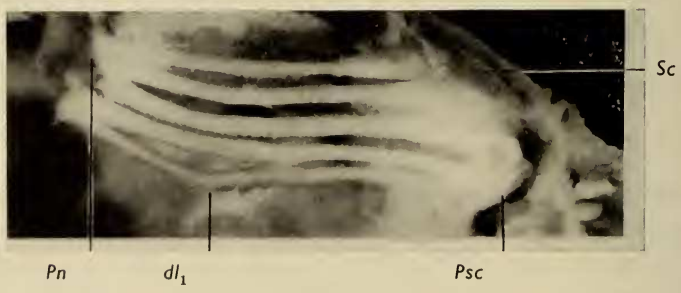

Abb. 9.

dl-Flugmuskel, linke Hälfte des Mesothorax. 6. Tag. Vergr. 10,4 ×.
dl_1 = dl-Flugmuskel, Pn = Postnotum, Psc = Praescutum, Sc = Scutum.

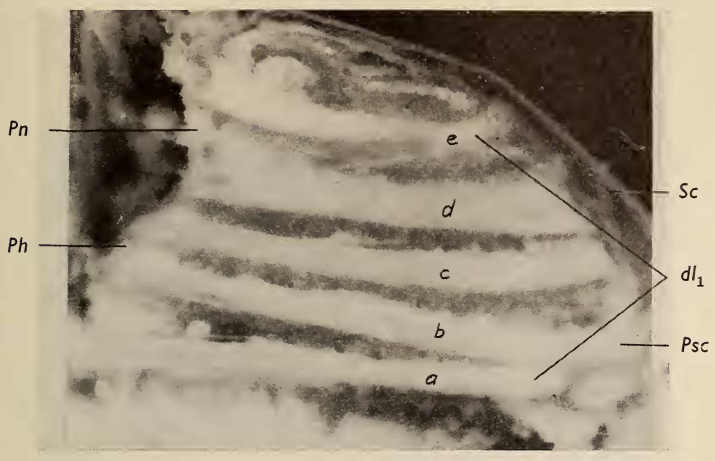

Abb. 10.

dl-Flugmuskel, linke Hälfte des Mesothorax. 9. Tag. Der Muskel hat seine definitive Lage an der medianen Oberfläche erreicht. Vergr. 9,0 ×.
dl_1 = dl-Flugmuskel, Ph = Phragma II, Pn = Postnotum, Psc = Praescutum, Sc = Scutum.

Abb. 11.

dl-Flugmuskel, linke Hälfte des Mesothorax. 12. Tag. Vergr. 8,5 ×.
dl_1 = dl-Flugmuskel, dv = dorsoventraler Flugmuskel, Ph I = Phragma I, Ph II = Phragma II, Pn = Postnotum, Psc = Praescutum, Sc = Scutum

Auch das hintere Phragma II beginnt nach ventral vorzudringen und erreicht am 9. Tag seine definitive Lage im Mesothorax, womit die dl-Muskeln in ihre endgültige Lage gerückt werden: Der

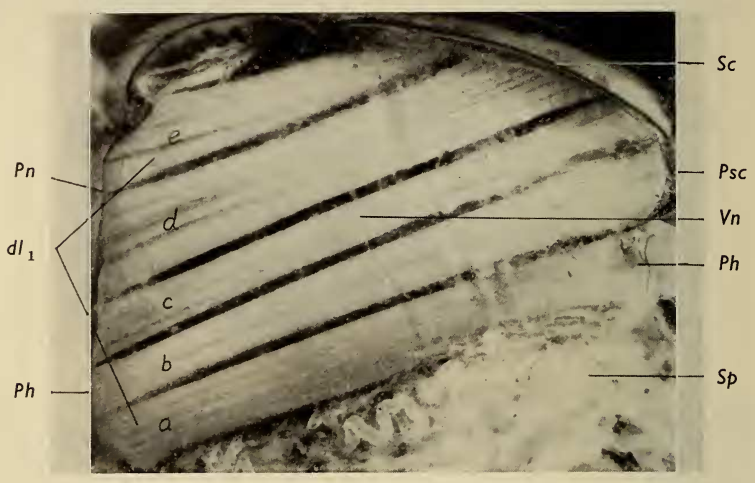

Abb. 12.

dl-Flugmuskel, linke Hälfte des Mesothorax. 18. Tag. Vergr. 9,4 ×.
dl_1 = dl-Flugmuskel, Ph = Phragma, Pn = Postnotum, Psc = Praescutum, Sc = Scutum, Sp =Speicheldrüse, Vn = Vorderflügelnerv II N 1 b.

dl_{1a}-Muskel setzt nun vorne am Phragma I, das Bündel dl_{1b} am Präscutum und die Bündel $dl_{1c,\ d\ und\ e}$ am Scutum an. Die Bündel $dl_{1c,\ d\ und\ e}$ inserieren am Postnotum und die Bündel $dl_{1a\ und\ b}$ am Phragma II des Mesothorax (Abb. 10).

In den nächsten zwei Tagen, bis zum 11. Entwicklungstag, verändert sich am entstehenden Muskel in anatomischer Hinsicht ausser einer geringen Zunahme der Muskelmasse nichts.

Eine starke Zunahme der Muskelmasse gegenüber dem 11. erfolgt bis zum 12. Tag, an dem sich die Muskelmasse auf eine Höhe von 3,36 mm ausdehnt (Abb. 11). Wie später beim fertigen imaginalen Muskel können auch hier schon bedeutende Unterschiede in der Höhe der einzelnen Muskelbündel gemessen werden: Während die Bündel *a*, *b* und *c* mit ungefähr 0,5 mm Höhe pro Bündel sich gegenüber dem Vortag kaum verdicken, nehmen *d* und *e* bedeutend an Höhe zu, wobei das Bündel dl_{1d} 0,89 mm und das Bündel

dl_{1e} gar 0,96 mm Höhe aufweist. Der Fettkörper wird bis zum 12. Tag teilweise für die Entwicklungsprozesse verbraucht.

Am 18. Tag (Abb. 12) ist er zwischen den Muskelbündeln vollständig verschwunden; die Muskelmasse hat in ihrer Ausdehnung

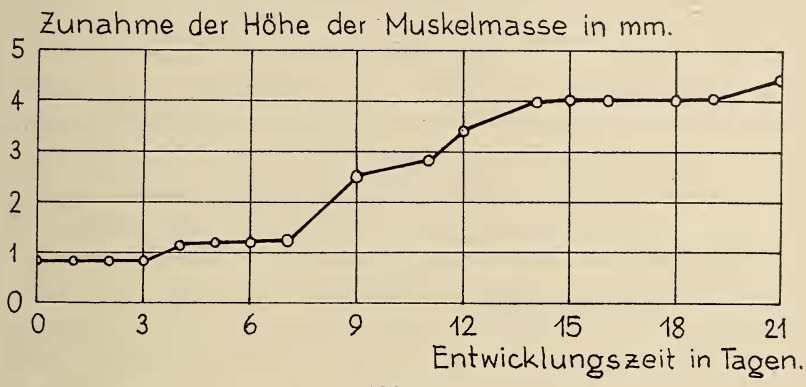

Abb. 13.

Zunahme der Höhe der Muskelmasse der dl-Flugmuskeln im Verlaufe der Imaginalentwicklung in mm.

nahezu den imaginalen Zustand erreicht. Die weitere Dickenzunahme der Muskelfasern bis zum Schlüpftag lässt die dorsolongitudinalen Flugmuskeln noch kompakter werden. Ausserdem dehnen sie sich auch in lateraler Richtung gegen die dorsoventralen Muskelbündel aus, die von dorso-lateral nach ventromedian an das Sternum und in die Coxa ziehen. Besonders die dorsal gelegenen Bündel *d* und *e* haben die Möglichkeit, sich gegen die Seite auszudehnen.

Als Zusammenfassung über die anatomische Entwicklung dient Abb. 13. Stellt man die Zunahme des Wachstums der Muskelmasse in die Höhe graphisch dar, so kann man eine ganz schwache Steigerung bis zum 7. Tag beobachten. Von diesem Moment an wird das Muskelwachstum beschleunigt, sodass am 14.-15. Tag schon nahezu der adulte Zustand erreicht wird.

b) *Histologie*

Im folgenden soll die histologische Differenzierung der in der Muskelanlage der Diapausepuppe vorhandenen Myoblasten zu imaginalen Muskelfasern beschrieben werden.

Schon beim Beginn der Entwicklung treten wesentliche Veränderungen in der Muskelanlage auf. Die Myoblasten vermehren sich in den ersten zwei Tagen durch eine rege Mitosetätigkeit. Solche Teilungsbilder können recht häufig gesehen werden. Die Zahl der Muskelkerne vervielfacht sich auf diese Weise sehr rasch. Die eben geteilten Myoblastenkerne sind gleichfalls noch von rundlicher Gestalt. Die gleiche Beobachtung machten andere Autoren auch an andern Insekten, z.B.: Hufnagel (1918) an *Hyponomeuta* (Lepidoptera) und Blaustein (1935) an *Ephestia* (Lepidoptera). Nach diesen mitotischen Teilungen verschmelzen die einzelnen Myoblasten zu syncytialen Strängen, die in der Längsachse der Muskelanlage liegen. In der weiteren Beschreibung der Muskelentstehung wird einheitlich der Begriff „ Syncytium " verwendet. Dabei darf jedoch nicht übersehen werden, dass auch der Ausdruck « Plasmodium " (v. Möllendorff, 1933, Bargmann, 1948) berechtigt wäre, da diese vielkernigen „ syncytialen " Gebilde nicht nur durch Verschmelzung einkerniger Myoblasten entstehen. Noch vor dieser Verschmelzung zum Muskelsyncytium entstehen durch mitotische und amitotische Kernteilungen ohne entsprechende Gliederung der Cytoplasmamasse „ plasmodiale Myoblasten ", die dann zur „ syncytialen Muskelfaser " verschmelzen. Blaustein (1935) weist bei *Ephestia kühniella* während der Metamorphose in den ersten Tagen nach Verpuppung Syncytien nach, „ die sich durch mitotische Teilung der Myoblastenkerne ohne Durchschnürung des Plasmakörpers bilden ".

Zwei Tage nach Entwicklungsbeginn sind die rundlichen Myoblasten mit den rundlichen Kernen verschwunden: Die Kerne haben sich grösstenteils in die Länge gestreckt und sind in der Längsachse der Muskelanlage angeordnet. Es können keine „ plasmodialen Myoblasten " mehr beobachtet werden; diese haben sich zu den in der Längsachse der Anlage orientierten Muskelsyncytien vereinigt, den vielkernigen Muskelfasern. An den längsgestreckten Kernen konnten keine mitotischen Teilungen mehr gesehen werden, dagegen sind recht häufig amitotische Kernteilungen vorhanden.

Das Myoplasma weist granulöse Einschlüsse auf, die parallel zur Längsachse der Muskelkerne gelagert sind. Diese sehr kleinen Granula liegen ziemlich nahe hintereinander und sind durch einen äusserst feinen Faden in der Muskellängsrichtung miteinander

verbunden. Ihr Durchmesser dürfte ungefähr 0,1 μ betragen, eine genauere Bestimmung ist lichtmikroskopisch nicht möglich.

Bis zum dritten Tag (Abb. 14) sind in der Achse der Muskelanlage schon deutliche Muskelfasern ausgebildet, die von einer, manchmal allerdings nicht gut sichtbaren Membran begrenzt werden, dem späteren Sarcolemm. Jede Muskelfaser stellt nun ein vielkerniges Muskelsyncytium dar, das als etwa 5 μ dicker Strang von Segmentgrenze zu Segmentgrenze zieht. Die Kerne sind mehr oder weniger zentral in der Muskelfaser angeordnet, oder sie sind so gross, dass sie den Faserdurchmesser gerade ausfüllen. Meistens sind sie in perlschnurartigen Ketten aneinandergereiht. Aehnliche Bilder stellt auch Hufnagel (1918) dar.

In der Weiterentwicklung der Muskulatur werden auch die peripheren Teile der Muskelanlage von der Faserbildung erfasst, sodass bis zum 9. Tag nur noch Muskelfasern vorhanden sind (Abb. 15). Diese wachsen im Mittel von rund 5 μ am 3. Tag auf ungefähr 14 μ Durchmesser an. Die Muskelkerne vermehren sich immer noch durch amitotische Teilungen. Perlschnurartige Kernreihen (bis zu zehn Kernen) können noch hie und da beobachtet werden, sind jedoch lange nicht mehr so häufig wie am zweiten oder dritten Tag. Bis zum 9. Tag wird die parallele Anordnung der rosenkranzartig im Myoplasma liegenden Granulafäden immer deutlicher, sodass die Vermutung berechtigt erscheint, dass sie die Vorstufe der Myofibrillen darstellen. Zwischen diesen Granulareihen liegen, teils angehäuft, teils recht spärlich, freie, nicht durch Fäden verbundene Granula. Hier handelt es sich wohl um Mitochondrien. Im Verlaufe des 9. Tages können klar definierbare Myofibrillen nachgewiesen werden, die noch nicht quergestreift sind; sie nehmen in der Muskelfaser den Platz der Granulafäden ein.

Wie die allfällige Umbildung der Granulareihen in Myofibrillen vor sich geht, kann nach meiner Meinung mit mikroskopischen Mitteln allein nicht mit genügender Sicherheit beurteilt werden. Blaustein (1935) zeigt, dass vom 8. Puppentag an in der einheitlichen Masse des Myoplasmas feine Verdichtungen auftreten, die er als erste Anlagen der Myofibrillen auffasst. Auch bei *Ephestia kühniella* erfolgt dann die Sonderung der Fibrillen am 9. Entwicklungstag (Gesamtdauer der Imaginalentwicklung ebenfalls 21 Tage).

Auffällig viele Fettkörperzellen sind am 9. Tag zwischen den Muskelfasern in Auflösung begriffen. Sie werden offenbar in

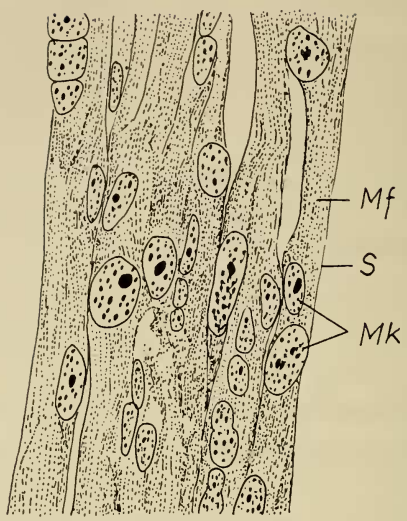

Abb. 14.

Längsschnitt durch den dl-Flugmuskel, Bildung der Muskelfasern. 3. Tag. Vergr. 910 ×.
Mf = Muskelfaser, Mk = Muskelkerne, S = Sarcolemm.

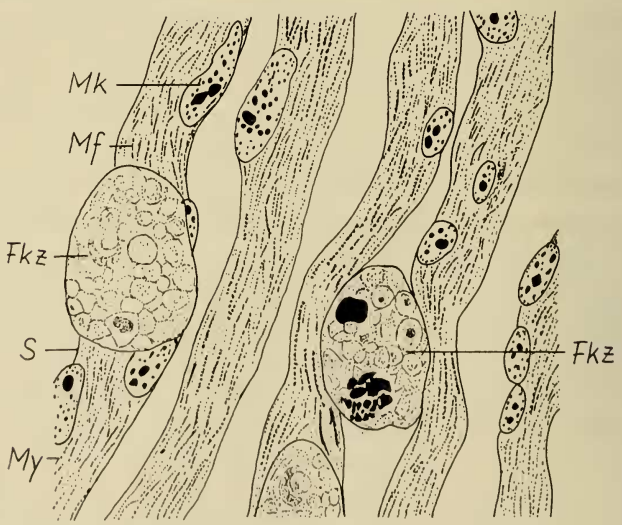

Abb. 15.

Längsschnitt durch den dl-Flugmuskel. Auswanderung der Kerne an den Faserrand. Auflösung der Fettkörperzellen. 9. Tag. Vergr. 910 ×.
Fkz = Fettkörperzelle, Mf = Muskelfaser, Mk = Muskelkern, My = Myofibrille, S = Sarcolemm.

Aufbaustoffe (Proteine) für die Muskulatur umgewandelt; je weiter nämlich die Muskulatur in der Entwicklung voranschreitet, umso kleiner werden die Massen des Fettkörpers in der Umgebung der Muskulatur und umso dicker werden die einzelnen Muskelfasern und damit auch die Muskelbündel.

Ein wesentlicher Fortschritt im Hinblick auf die Funktion der Muskeln wird mit dem 10. Tag erreicht. Einige Muskelkerne befinden sich immer noch in der Fasermitte, andere jedoch sind an die Peripherie gewandert. Ausserdem zeigt sich an verschiedenen Stellen der Muskelfaser, vornehmlich in der Fasermitte, das erste Auftreten der Querstreifung, wie dies in Abb. 16 dargestellt ist. Die Querstreifung drückt sich als ganz schwache Verdickungen an den Myofibrillen aus. Diese mehr oder weniger knotenförmigen Verdickungen der Myofibrillen verkörpern das Q-Band der Muskelsarcomeren. Die Hensensche Mittelscheibe ist noch nicht vorhanden.

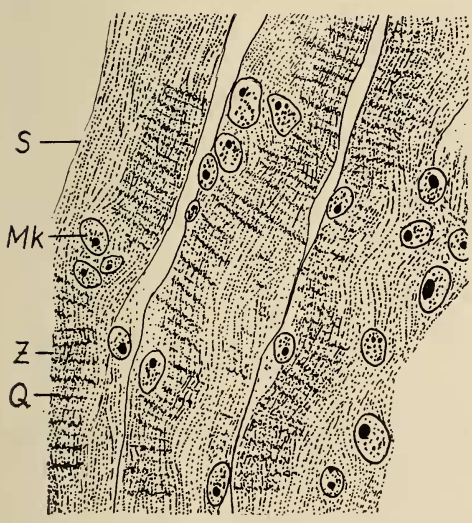

Abb. 16.
Längsschnitt durch den dl-Flugmuskel. Erstes Auftreten der Querstreifung. Auswanderung der Kerne an den Faserrand. 10. Tag. Vergr. 910 ×.
Mk = Muskelkern, Q = Q-Band, S = Sarcolemm, Z = Z-Membran.

Abb. 17.
Längsschnitt durch den dl-Flugmuskel. Querstreifung gebildet, Kerne am Faserrand 13. Tag. Vergr. 910 ×.
I = I-Band, Mk = Muskelkern, Q = Q-Band, S = Sarcolemm, Z = Z-Membran.

Die Z-Membran ist gleichzeitig in einer äusserst schwach sichtbaren Punktreihe angedeutet, die zwischen zwei Q-Bändern liegt. Während des 10. Tages treten diese Merkmale der Querstreifung immer

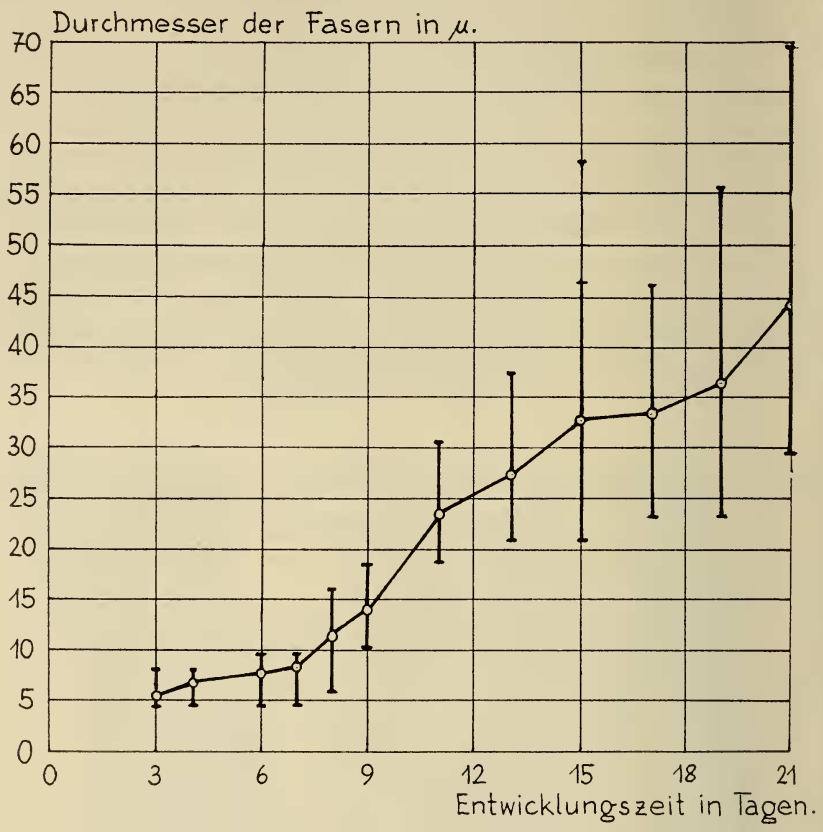

Abb. 18.

Zunahme des Durchmessers der Muskelfasern im Verlaufe der Imaginalentwicklung. (Am 15. Tag ein extrem hoher Wert).

deutlicher hervor, vor allem die Q-Regionen der Fibrillen werden kräftiger. Die Querstreifung tritt in den einzelnen Muskelfasern regional auf und breitet sich dann allmählich über die ganze Faser aus. Bis zu ihrer völligen Ausdifferenzierung vergehen drei weitere Tage. Ein „förmlich schlagartiges Einsetzen der Querstreifung", wie dies Blaustein (1935) an der sich entwickelnden Muskulatur

von *Ephestia* beschrieben hat, ist bei den Muskeln von *Antheraea* auf keinen Fall festzustellen.

Im Verlaufe des 11. Tages wandern auch die letzten Muskelkerne aus der zentralen Region der Muskelfaser an den Faserrand ab; sie liegen nun als schmale, stark in die Länge gezogene Kerne direkt unter dem Sarcolemm. Ein ähnliches Geschehen beschreibt

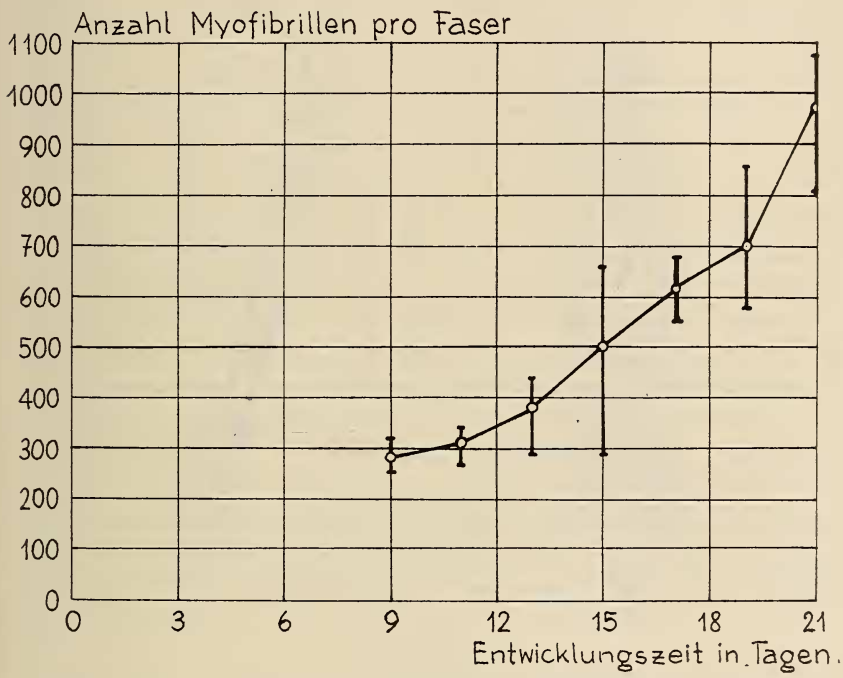

Abb. 19.

Zunahme der Anzahl der Myofibrillen in den Muskelfasern im Verlaufe der Imaginalentwicklung.

auch Blaustein (1935) an *Ephestia*: „Zuerst vereinzelt, später in den ganzen Strängen, wandern die Kerne der Peripherie zu und ordnen sich dort am Rande um den einzelnen Syncytiumstrang an“. Bei *Antheraea* können oft ganze Reihen von Kernen (bis 10) hintereinander liegen. Solche Kernreihen wurden auch von Hufnagel (1918) in der Muskelentwicklung von *Hyponomeuta* beschrieben.

Die Querstreifung, die an diesem Tag die Z-Membran etwas deutlicher hervortreten lässt, zeigt im übrigen keine wesentlichen Veränderungen: Das Q-Band wird immer noch nicht durch die

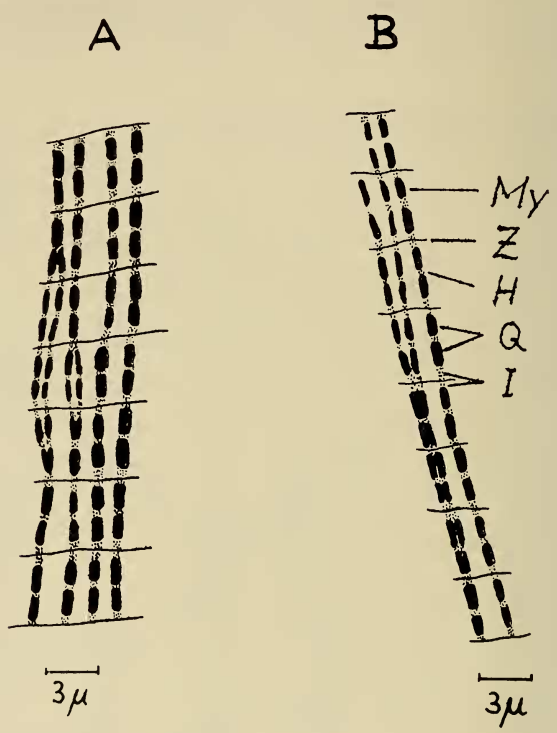

Abb. 20.

Längsteilung der Myofibrillen der dl-Flugmuskeln. 14. Tag. Vergr. 3000 ×. H = Hensensche Mittelscheibe, I = I-Band, My = Myofibrille, Q = Q-Band, Z = Z-Membran.

H-Zone in zwei Hälften geteilt. Einen Tag später jedoch, am 12. Tag, sind die Q-Bänder mehrheitlich durch die H-Zone zweigeteilt, sodass in einer Sarcomere folgende Querstreifungselemente vorhanden sind: Z-I-Q-H-Q-I-Z. Die Z-Membran stellt noch immer wie am Vortag eine Reihe knotenförmiger Verdickungen auf den Myofibrillen dar. Am 13. Tag sind sämtliche Merkmale der adulten Faser vorhanden: Die Sarcomere wird nun begrenzt von einer durchgehenden Z-Membran, d.h. die punktförmigen Verdickungen

auf den Myofibrillen sind unter sich durch eine feine Membran verbunden (Abb. 17), die sich am Sarcolemm anheftet. Damit sind die Querstreifungselemente mit Ausnahme der imaginalen N-Linie vorhanden. Das Nerv-Muskel-System zeigt nach Nüesch (1962) zu diesem Zeitpunkt spontane Kontraktion.

Bis zum Schlüpftag nimmt die Faserdicke dauernd zu (siehe Abb. 18). Dieses Dickenwachstum der Muskelfasern beruht auf der Zunahme der Zahl der Myofibrillen (Abb. 19). Die Vermehrung der Myofibrillen erfolgt durch Längsteilung, wie dies schon Mlodowska (1908), Heidenhain (1913) und Häggqvist (1931) beschrieben. Der Nachweis der Längsteilung der Fibrillen war sehr schwierig, da die Fibrillen mit einem Durchmesser von ca. 0,25-0,3 μ in einer Grössenordnung liegen, die schon nahe dem Auflösungsvermögen des Mikroskopes ist. Eine Fibrille beginnt sich ungefähr in der Mitte ihrer Länge über einige Sarcomerenlängen in zwei Tochterfibrillen aufzuteilen (Abb. 20*a* und *b*). Dieser Teilungsprozess dehnt sich dann allmählich über die ganze Länge der Fibrille aus, bis zwei selbständige Tochterfibrillen gebildet sind, die zunächst je den halben Durchmesser der Mutterfibrille aufweisen, und dann zur normalen Fibrillendicke anwachsen.

Das Sarcolemm, welches die Myofibrillen einer Muskelfaser umgibt und sie zusammenhält, kann an den Muskelfasern von *Antheraea* als ziemlich kräftige Membran erkannt werden. Es bildet, wie dies in Längsschnitten durch Muskelfasern besonders gut sichtbar wird, als leichtgekräuselte Linie die Grenze der Muskelfaser.

B. Entwicklung bei Tieren ohne Diapause

a) *Anatomie*

Die Tatsache, dass die direkte Entwicklung nach der Verpuppung ebenfalls 21 Tage beansprucht, weckte in mir den Verdacht, dass bei diesen Tieren die Muskelentwicklung nicht gleich abläuft wie bei den Tieren mit einer Metamorphose mit Diapause.

Bei der anatomischen Präparation einer frisch gehäuteten Puppe müssen ausser sehr viel Fettkörper drei larvale Muskelschichten von median her abgetragen werden, bis der helle Knoten der imaginalen Muskelanlage zum Vorschein kommt, der die Anlage der

dorsolongitudinalen Flugmuskeln der Diapausepuppe kennzeichnet. Die dl-Muskelanlage eines sich eben zur Puppe gehäuteten Tieres weist ungefähr die halbe Höhe der Anlage einer Diapausepuppe auf. Äusserst feine Fäserchen verbinden sie mit der Phragmaleiste und dem Postnotum des Mesothorax.

Bis zum vierten Tag nach der Verpuppung hat die Muskelanlage der dorsolongitudinalen Flugmuskeln den Differenzierungsgrad bei einem im vierten Entwicklungstage nach der Diapause stehenden Tier schon fast erreicht. Auch sind bis zu diesem Alter sämtliche larvalen Muskeln abgebaut.

Mit dem 7. Tag wird der Entwicklungszustand der gleichaltrigen Diapausetiere erreicht, weshalb auf die Präparation weiterer Tiere verzichtet wurde. Auch die imaginalen, dorsolongitudinalen Flugmuskeln sind bei Tieren mit oder ohne Diapause gleich stark ausgebildet.

b) *Histologie*

Bei Tieren ohne Diapause verläuft die Frühentwicklung der histologischen Strukturen anders als bei Diapausetieren. Beim eben verpuppten Tier kann, wie beim Entwicklungsbeginn nach 10-wöchiger Diapause, in der Muskelanlage eine rege Mitosetätigkeit beobachtet werden. Diese hört jedoch nach dem zweiten Tag nicht wie bei den Diapausetieren auf, sondern dauert noch bis zum 7. Tag nach der Verpuppung (Abb. 21-22). Eine Periode der Längsstreckung der Myoblastenkerne aber kann kaum festgestellt werden. Die Myoblastenkerne, und nach Bildung der Muskelfasern auch die Muskelkerne, teilen sich nur in ganz vereinzelten Fällen auf amitotischem Wege. Es scheint, dass diese amitotischen Teilungen während der Vorpuppenzeit beim Beginn des Abbaus der larvalen Muskelfasern stattfanden (siehe Seite 799). Da nur spärlich Amitosen vorkommen, fehlen den sich entwickelnden Muskelfasern von Tieren ohne Diapause denn auch die Kernreihen, die für Muskelfasern von Diapausetieren so charakteristisch waren.

Während des Aufbaues der imaginalen Muskelfasern werden bis zum 4. Tag nach Verpuppung aus den benachbarten, in Auflösung begriffenen, larvalen Muskelfasern immer noch Myoblasten an die Muskelanlage abgegeben, ähnlich, wie dies schon in Abb. 7 für den Verpuppungstag bei Tieren ohne Diapause dargestellt wurde.

Vom 7. Tag nach Verpuppung verläuft die Entwicklung der histologischen Strukturen gleich wie bei Tieren mit Diapause; es kann daher auf eine weitere Beschreibung der Muskelentwicklung von Tieren ohne Diapause verzichtet werden.

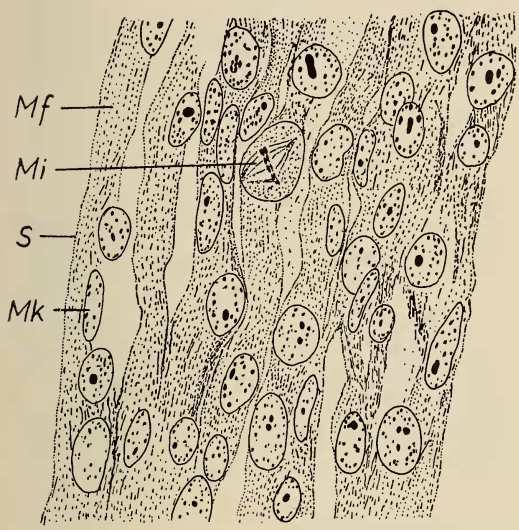

Abb. 21.
Längsschnitt durch den dl-Flugmuskel. 2. Tag. (Entwicklung ohne Diapause). Vergr. 910 ×. Mf = Muskelfaser, Mi = Mitose in Metaphase, Mk = Muskelkern, S = Sarcolemm.

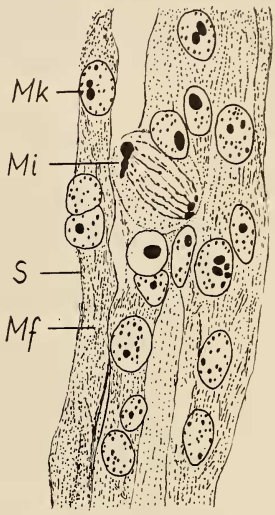

Abb. 22.
Längsschnitt durch den dl-Flugmuskel. 4. Tag. (Entwicklung ohne Diapause). Vergr. 910 ×. Mf = Muskelfaser, Mi = Mitose in Telophase, Mk = Muskelkern, S = Sarcolemm.

C. Die Kennzeichen des Histogeneseverlaufes

Überblickt man den ganzen Ablauf der Muskeldifferenzierung bei Diapausetieren, so können zusammenfassend 5 charakteristische Phasen unterschieden werden:

Phase I (1. und 2. Tag): *Die Anlage des Muskelgewebes.*

Die Anlage des Muskelgewebes der dorsolongitudinalen Flugmuskeln von Antheraea erfolgt während der Degeneration

der larvalen Muskelfasern, deren Kerne sich zu einer mehr oder weniger kompakten Imaginalanlage zusammenscharen. Durch mitotische Teilungen der Myoblastenkerne wird die Zahl der Muskelkerne erheblich vermehrt. Anschliessend strecken sich die Kerne auffällig in die Länge.

Bei der Imaginalentwicklung ohne Diapause vermehren sich die Myoblastenkerne ebenfalls mitotisch, sie strecken sich jedoch nicht in die Länge.

Phase II (3.-8. Tag): *Bildung der Muskelfasern.*

Nach der Längsstreckung der Myoblastenkerne teilen sich diese nur mehr amitotisch. Dadurch entstehen mehrkernige, plasmodiale Zellen, die sich in der Längsachse des ganzen Muskels orientieren und in der gleichen Richtung zu einem syncytialen Verband, der Muskelfaser, verschmelzen. Die einzelnen Muskelfasern sind durch eine Membran begrenzt.

Entwickeln sich die Tiere ohne Diapause, fehlen Amitosen fast vollständig, doch kommen Mitosen bis zum 7. Tag vor.

Phase III (8.-9. Tag): *Bildung der Myofibrillen.*

In den Muskelfasern ordnen sich rosenkranzartige Granulafäden in Längsrichtung der Faser an. Gegen Ende des 9. Tages befinden sich anstelle der Granulafäden deutliche, nicht quergestreifte Myofibrillen.

Vom 8. Tag an verläuft die Flugmuskelentwicklung der Tiere ohne Diapause gleich wie bei den Diapausetieren.

Phase IV (10.-13. Tag): *Entstehung der Querstreifung.*

Am 10. Tag wird die Querstreifung sichtbar als feine, anfänglich nur ganz schwache, regional auftretende Streifung der Faser, die sich im Verlaufe der nächsten zwei Tage über die ganze Faser ausdehnt. Diese erstmals wahrnehmbare Querstreifung besteht aus dem Q-Band und der Z-Membran, die in einer feinen, punktförmigen Reihe zwischen den Q-Bändern angedeutet ist. Das Q-Band wird am 12. Tag durch die Hensensche Mittelscheibe zweigeteilt.

PHASE V (13.-21. Tag): *Dickenwachstum der Muskelfasern.*

Bis zum Schlüpftag vermehren sich die Myofibrillen durch Längsteilung, sodass die Muskelfaser ständig an Dicke zunimmt.

7. DISKUSSION DER ERGEBNISSE DER ANATOMIE UND DER HISTOLOGIE

A. AMITOSEN UND KERNREIHENBILDUNG

Vom Beginn der Imaginalentwicklung der Diapausetiere bis zum zweiten Tag führen in den Muskelanlagen Mitosen zu einer starken Vermehrung der Myoblastenkerne. Mit dem Übergang der

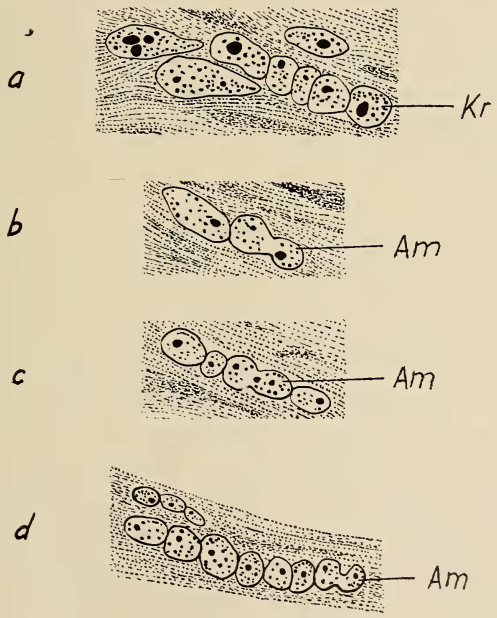

Abb. 23.

Kernreihen in Amitosen:
a) Kernreihe mit 5 aneinanderliegenden Kernen.
b) Amitose in Kernreihe mit zwei Kernen.
c) Amitose in Kernreihe mit vier Kernen.
d) Amitose in Kernreihe mit sieben Kernen.
Vergr. 910 ×.
Am = Amitose, Kr = Kernreihe.

zum Teil plasmodialen Myoblasten in syncytiale Stränge strecken sich die Muskelkerne am dritten Tag stark in die Länge. Schon einen Tag später ist die Zahl der längsgestreckten Kerne bedeutend geringer. An ihrer Stelle befinden sich Kernreihen von zwei bis mehreren Kernen. Solche Kernreihen, wie sie auch HUFNAGEL (1918) an *Hyponomeuta* beschreibt, gehören bei *Antheraea* bis zum neunten Tag zum typischen Bild der entstehenden Flugmuskelfasern. Die Umwandlung von den längsgestreckten Kernen zu Reihen mehrerer, kleiner Kerne erfolgt durch Kernteilungen. Sowohl an den längsgestreckten als auch an den kleineren Kernen können solche Teilungen beobachtet werden. Die in Teilung befindlichen Kerne zeigen deutliche, mehr oder weniger tiefe Einschnürungen. Da nach dem zweiten Tag keine Mitosen mehr festgestellt werden konnten, die Kernzahl von etwa 1600 Kernen aber noch lange nicht erreicht ist, muss es sich bei diesen Kernteilungen um Amitosen handeln, wie sie BUCHER (1959) bei Gewebekulturen beschrieb. In Abb. 23 sind solche Amitosen und Kernreihen dargestellt. Die Kerne der Kernreihen teilen sich ebenfalls amitotisch, gleichgültig, ob sie am Ende oder in der Mitte einer Kernreihe liegen.

B. TYPUS DER FLUGMUSKELN VON ANTHERAEA PERNYI

Sowohl die dorsolongitudinalen als auch die dorsoventralen Flugmuskeln von *A. pernyi* entsprechen dem Muskeltyp, den PRINGLE (1957) an *Chortoicetes terminifera* (Acrididae) als „ close-packed " beschrieben hat. Im Querschnitt durch die Muskelfasern kann man erkennen, dass sämtliche Muskelkerne an der Faserperipherie direkt unter dem Sarcolemm liegen und dass die Myofibrillen dicht gepackt die ganze Schnittfläche ausfüllen.

Auf die Entwicklung bezogen, gehören die dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea* zu den von HUFNAGEL (1918) als „ muscles thoraciques à évolution précoce " beschriebenen Muskeln von *Hyponomeuta*. Darunter versteht HUFNAGEL Thorakalmuskeln mit früher Umwandlung von larvalen zu imaginalen Muskeln: die Flugmuskeln und die äussern Beinmuskeln. Im Gegensatz dazu nennt HUFNAGEL die peripheren Hüllmuskeln und einige tiefer gelegene Muskeln „ muscles thoraciques à évolution tardive ",

die ihren larvalen Charakter bis zum zweiten Tag nach der Puppenhäutung bewahren. Der Abbau der larvalen Muskeln von *A. pernyi* erfolgt bei Tieren mit und ohne Diapause in acht Tagen. Bei Diapausetieren dauert die Zeit der Vorpuppe bis zur Puppenhäutung durchschnittlich acht Tage. In der Diapausepuppe können keine larvalen Muskeln mehr im Thorax gefunden werden. Dagegen erfolgt die Puppenhäutung bei Tieren, die die Imaginalentwicklung ohne Diapause beginnen, schon vier Tage nach Beginn der Vorpuppenzeit. Bei diesen Puppen sind die larvalen Muskeln erst am 4. Tag vollständig abgebaut.

C. Vergleich mit den Muskeln anderer Insekten

Im Gegensatz zu den Flugmuskeln einiger anderer Insekten (*Halictus speculiferus* und *Apis mellifica* (Hymenoptera)), die Tiegs (1955) beschrieb, fehlt den Sarcomeren der Flugmuskelfasern von *Anthearea* die M-Membran, welche die Hensensche Mittelscheibe unterteilt. Dagegen enthält das I-Band der Sarcomeren der imaginalen Muskeln von *A. pernyi* N-Scheiben. Diese konnten in früheren Entwicklungsstadien, selbst am 19. Tag, noch nicht nachgewiesen werden.

Die während der Entwicklung der Flugmuskeln von *A. pernyi* beobachtete Vermehrung der Myoblastenkerne, anfänglich durch mitotische und später durch amitotische Teilungen, ist eine häufige Erscheinung bei der Entwicklung der Insektenflugmuskeln, obwohl diese verschiedenen Muskeltypen angehören. Diese Reihenfolge der beiden Kernvermehrungsarten wurde von verschiedenen Autoren beschrieben: Hufnagel (1918) an *Hyponomeuta* (Lepidoptera) mit Flugmuskeln vom Typ „close-packed", Tiegs (1955) an *Cyclochila* (Homoptera) mit lamellären und Perez (1910) an *Calliphora* (Diptera) mit fibrillären Flugmuskeln. Dagegen fehlen mitotische Teilungen während der Muskelentwicklung bei *Thymalus* (Coleoptera) nach Breed (1903) und bei einer Wespe (Hymenoptera) nach Jordan (1920) (Coleoptera und Hymenoptera besitzen „fibrilläre" Flugmuskeln).

Im Gegensatz zu *Antheraea*, bei der die Q-Bänder und die Z-Membranen gleichzeitig am 10. Tag auftreten, zeigte Jordan (1920) bei der Entwicklung des Flugmuskels einer Wespe, dass die Telophragmata (Z-Membranen) vor dem Q-Band erscheinen.

Ein Vergleich der Sarcomerenlängen der Flugmuskeln von *A. pernyi* mit jenen der Schmeissfliege *Calliphora erythrocephala* (Hanson, 1956) und von *Hydrophilus piceus* (Edwards et al., 1954) ist in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Muskelfasern von *A. pernyi*

Tabelle 1

Vergleich der Sarcomerenlängen von A. pernyi *mit jenen von* Calliphora erythrocephala *und von* Hydrophilus piceus

Tier	*Antheraea pernyi*	*Calliphora * erythrocephala*	*Hydrophilus** piceus*
Muskel	indirekter Flugmuskel	indirekter Flugmuskel	indirekter Flugmuskel
Kontraktionszustand	gestreckt	Ruhelänge	gestreckt
Sarcomerenlänge	3,50 μ	3,6 μ	3,23 μ
A-Band	2,33 μ	3,0 μ	2,40 μ
I-Band	1,17 μ	0,6 μ	0,80 μ

* nach Hanson (1956)
** nach Edwards et al. (1954).

wurden alle im Thorax mit Bouin-Duboscq-Lösung fixiert, sodass sie nahezu in der natürlichen, etwas gestreckten Normallage blieben. Präpariert man dagegen den Muskel vor dem Fixieren aus dem Thorax, so zieht er sich langsam ungefähr auf die Hälfte der Ruhelänge zusammen. Die Sarcomeren der Muskelfasern von *A. pernyi* erstrecken sich in Normallage im Durchschnitt über eine Länge von 3,50 μ mit einer Variation von 3,2-3,8 μ. Davon entfallen auf das Q-(A-) Band, die Hensensche Mittelscheibe mit eingerechnet, im Mittel 2,33 μ (Variation 2,1-2,5 μ), sodass für das I-Band 1,17 μ übrigbleiben.

8. BIOCHEMIE DER FLUGMUSKELENTWICKLUNG

Ausser der strukturellen Entwicklung der Muskelfaser ist für eine Beurteilung der Funktionsentwicklung auch die biochemische Differenzierung wichtig. Nach der geltenden Vorstellung (vergl.

Reichel 1960) ist die Kontraktilität der Muskulatur an das Aktomyosin gebunden. Es ist also zu prüfen, wann diese Substanz im Verlaufe der Muskelentwicklung erstmals nachweisbar wird. Im folgenden sind die Ergebnisse meiner hierauf gerichteten Bemühungen bei *Antheraea* geschildert.

A. Methoden

a) *Extraktion von Aktomyosin*

Zur Extraktion von Aktomyosin wird nach persönlichen Mitteilungen von Frau Prof. Portzehl eine 0,6 m KCl-Lösung verwendet, die mit 0,02 m $NaHCO_3$ auf pH 7 eingestellt ist. Die aus dem Thorax von *A. pernyi* herauspräparierten Muskeln werden sofort in die auf 0° C bereitgehaltene Extraktionslösung gegeben. Für einen Versuch benötigt man mindestens 0,2 g Muskelsubstanz. Diese Menge liefern zwei Imagines, bei jüngern Stadien braucht es bis 15 Tiere. Das Verhältnis Muskelsubstanz zu Extraktionslösung ist 1:12. Die Muskeln werden im Tissue Grinder in der Extraktionslösung zermalmt, bis die Myofibrillen sowohl längs als auch quer zertrümmert sind (2-4 Min.). Während der 18-stündigen, bei 0° C ausgeführten Extraktion wird der Extrakt etwa jede Stunde leicht geschüttelt. Nach der Extraktion wird das Muskelhomogenat bei 0° C und 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und die überstehende, die löslichen Proteine enthaltende Flüssigkeit von den sedimentierten, unlöslichen Überresten und sonstigen Verunreinigungen (wie Fettkörper usw.) abdekantiert. Den Herren Prof. Dr. M. Brenner vom organisch-chemischen und Dr. H. Wagner vom physiologisch-chemischen Institut, die mir ihre Zentrifugen zur Verfügung stellten, möchte ich meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

b) *Viskositätsmessung*

Untersuchungen von Weber und Portzehl (1952 *a,b*) zeigten, dass Aktomyosin in Lösungen durch Messung ihrer Viskosität nachgewiesen werden kann. Dabei wird das Verhalten von Aktomyosin gegenüber Adenosintriphosphat (ATP) geprüft und die ATP-Empfindlichkeit bestimmt, unter Verwendung einer von der Konzentration unabhängigen Konstanten, der Viskositätszahl $Z\eta$.

Die Wirkung von ATP auf den Komplex Aktomyosin beruht, wie dies GILMOUR (1961) zusammenfassend beschreibt, in der Disso-

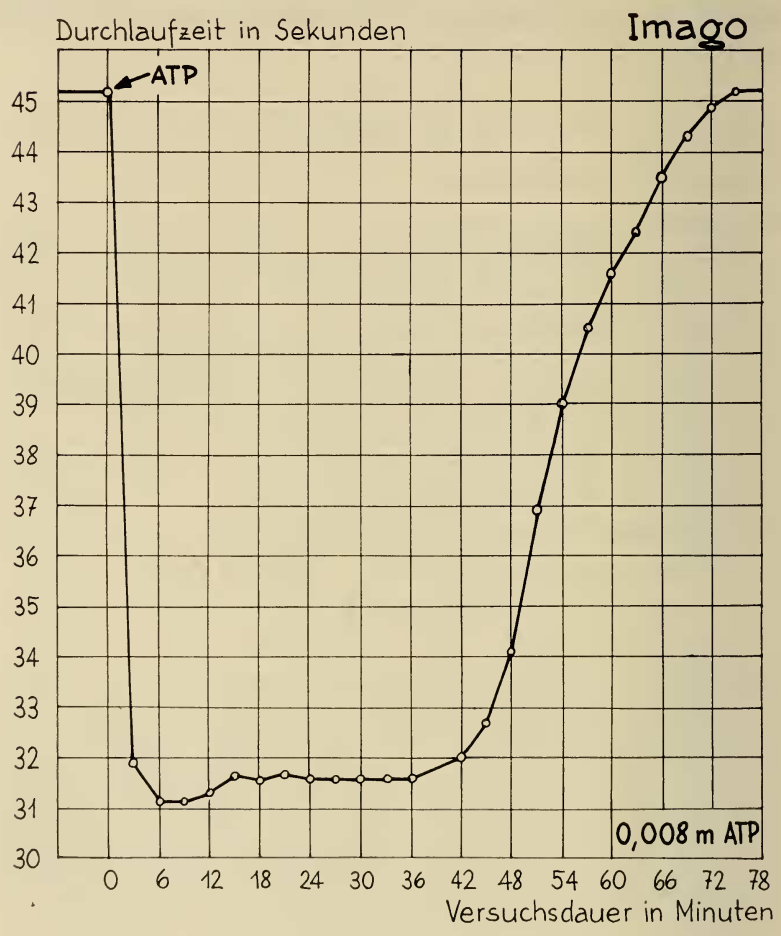

Abb. 24.
Viskositätserniedrigung auf Zusatz von ATP zu Muskelextrakt von Imagines

ziation der beiden Proteine Myosin und Aktin. Dies führt zu einem Abfall der Viskosität der Lösung. Gleichzeitig wird aber ATP durch das Myosin als ATP-ase angegriffen. Die dissoziierende Wirkung des ATP hört also nach einiger Zeit wieder auf. Diese Frist hängt ab von der verabreichten ATP-Menge. Es liegt somit in der Hand

des Experimentators, während welcher Zeit die ATP-Wirkung auf Aktomyosin erhalten bleiben soll. Für meine Untersuchungen wählte ich jeweils jene ATP-Konzentration, welche die Viskositätserniedrigung während ungefähr 20-30 Minuten konstant hielt, um die tiefere Viskositätszahl genau ermitteln zu können.

Dieses Verhalten wird in einem Viskosimeter nach SCHACHMANN mit einem relativ grossen Kapillarendurchmesser von ca. 1 mm geprüft. Gibt man 0,1 ml einer $8 \cdot 10^{-3}$ m ATP-Lösung zu den im Viskosimeter befindlichen 2 ml Muskelextrakt und misst alle drei Minuten die Durchlaufzeiten, so nimmt die Viskosität des Extraktes rapid ab bis zu einem konstanten Wert. Dieser brüske Abfall der Viskosität auf Zugabe von ATP drückt sich in stark verkürzter Durchlaufzeit durch das Viskosimeter aus. Die geringere Viskosität des Extraktes bleibt bei geeigneter ATP-Konzentration 20-30 Minuten erhalten. Alsdann wird die Lösung wieder visköser und erreicht allmählich die ursprüngliche Viskosität des Extraktes vor ATP-Zugabe. Abb. 24 zeigt dieses Verhalten, wie es für Muskelextrakte von Imagines typisch ist.

Die empirisch gemessenen Durchlaufzeiten ermöglichen die Berechnung der Viskositätszahl $Z\eta$ vor und nach Zusatz von ATP zum Extrakt. Dabei ist nach PORTZEHL et al. (1950):

$$\eta = \frac{\text{Durchlaufzeit des Muskelextraktes}}{\text{Durchlaufzeit des Lösungsmittels (KCl)}}$$

$$Z\eta = \frac{2{,}3 \cdot \log \eta_{\text{rel}}}{c}$$

Aus diesen beiden Viskositätszahlen $Z\eta$ und $Z\eta_{\text{ATP}}$ kann die Empfindlichkeit des Extraktes gegenüber ATP berechnet werden. Diese gibt an, um wieviel Prozente die Viskosität vor ATP-Zusatz grösser ist als nachher. Die ATP-Empfindlichkeit des Extraktes wird nach PORTZEHL et al. (1950) wie folgt berechnet:

$$\text{ATP-Empf. in } \% = \frac{Z\eta - Z\eta_{\text{ATP}}}{Z\eta_{\text{ATP}}} \cdot 100 = \frac{\log \eta_{\text{rel}} - \log \eta_{\text{rel ATP}}}{\log \eta_{\text{rel ATP}}} \cdot 100$$

B. RESULTATE

Zunächst untersuchte ich das Verhalten von imaginalen Muskelextrakten gegenüber ATP. Diese zeigen (Abb. 24), dass

alle Extrakte auf Zugabe von ATP mit rascher und starker Viskositätserniedrigung reagieren. Für sämtliche Versuche mit Imaginalextrakten verwendete ich eine $8 \cdot 10^{-3}$ m ATP-Lösung. Die Berechnungen der ATP-Empfindlichkeiten nach der oben angeführten Formel ergeben im Mittel aus 4 Versuchen mit neun voneinander unabhängigen Messungen 102,16% mit einer Variationsbreite von 89-117%.

Einen ersten Versuch zum qualitativen Nachweis von Aktomyosin während der Imaginalentwicklung setzte ich am 15. Tag an. Die letzten sechs Tage der Entwicklung wurden nicht geprüft, da nach den anatomischen und histologischen Befunden die dorsolongitudinalen Flugmuskeln in der Entwicklung schon beinahe den Imaginalzustand erreichen. Aus drei Versuchen gemittelt, liegen die ATP-Empfindlichkeiten bei 85%. Verglichen mit den imaginalen Werten ist die ATP-Empfindlichkeit wohl etwas gefallen; sie liegt jedoch nur knapp unter deren Variationsbereich.

Drei Tage früher, am 12. Tag, unternahm ich zwei weitere Versuche. Die Messungen der Viskositätsveränderungen dieses Muskelextraktes liessen eine ATP-Empfindlichkeit von 58,4% errechnen. Sie liegt also 26,6% tiefer als am 15. Tag. Vergleicht man dieses Resultat mit den histologischen Differenzierungen — die Querstreifung ist in diesem Alter zwar deutlich vorhanden, aber noch nicht völlig ausgebildet — so kann man auch hier wiederum die Parallele zwischen dem Aktomyosingehalt und den histologischen Strukturen erkennen.

Die viskosimetrischen Messungen an Muskelextrakten, die aus Puppen am 9. Tag gewonnen wurden, ergaben auf Zugabe von 0,1 ml $4 \cdot 10^{-3}$ m ATP-Lösung nur mehr sehr geringe Viskositätserniedrigungen. Die ATP-Konzentration wurde auf $4 \cdot 10^{-3}$ m reduziert, um eine zu grosse Verlängerung der Messdauer wegen der geringeren ATP-ase-Wirkung des Myosins zu vermeiden. Die ATP-Empfindlichkeit liegt im Durchschnitt nur mehr bei rund 13%.

Diese geringe ATP-Empfindlichkeit drückt sich auch in der schwachen Kontraktionsfähigkeit der Flugmuskeln aus. Nüesch (1962) erhielt bei Puppen dieses Alters die ersten Muskelkontraktionen, jedoch nur bei sehr starken Reizen (15-30 Volt bei 1 millisec. Reizdauer und Frequenz 50/sec.). Daraus kann man also schliessen, dass am 9. Tag Aktomyosin vorhanden sein muss, denn sonst vermöchten sich die Muskeln nicht zu kontrahieren. Andererseits

dürfte die Aktomyosinmenge ziemlich klein sein, da so starke Reize nur eine sehr geringe und langsame Kontraktion ergaben (siehe auch Seite 829). Die geringe ATP-Empfindlichkeit von ca. 13% stimmt somit mit den physiologischen, morphologischen und histologischen Feststellungen recht gut überein.

Geht man in der Entwicklungsreihe nochmals um 24 Stunden rückwärts auf den 8. Tag und fügt den Muskelextrakten wiederum ATP zu, so vermag dieses im Muskelextrakt keine Viskositätsveränderung mehr hervorzurufen. Die ATP-Empfindlichkeit ist auf 0% gefallen. Damit sind die Versuche zum qualitativen Nachweis von Aktomyosin am kritischen Punkt angelangt. An diesem Tag sprechen die Muskelanlagen nicht mehr auf Reize an, Aktomyosin scheint jetzt also zu fehlen. Aus der Parallele zwischen ATP-Empfindlichkeit und funktioneller Leistung darf geschlossen werden, dass die Empfindlichkeit der verwendeten Methode zum qualitativen Nachweis von Aktomyosin gross genug ist, um auch die erste geringe Menge am 9. Tag zu erfassen.

In Tabelle 2 sind die Viskositätszahlen und die ATP-Empfindlichkeiten sämtlicher Versuche zusammengestellt. In Abb. 25, in der die im Verlaufe der Muskelentwicklung von *A. pernyi* erhaltenen ATP-Empfindlichkeiten eingetragen sind, ist der rasche Anstieg von 0% am 8. Tag bis 85% am 15. Tag besonders deutlich zu erkennen. Die wichtigsten histologischen Differenzierungen sind oben in der Abbildung eingetragen. Vom 15. Tag an steigt die ATP-Empfindlichkeit nur mehr schwach an und erreicht bei Imagines 102%.

Während der Zeit bis zum 15. Tag spielen sich also im sich entwickelnden Muskel die Vorgänge ab, die aus einer mehr oder weniger undifferenzierten Anlage einen vollentwickelten Muskel hervorgehen lassen.

Um bei Puppen verschiedenen Alters die Dauer der Viskositätserniedrigung nicht zu lange messen zu müssen, war ich gezwungen, die ATP-Konzentrationen den schwächeren ATP-ase-Wirkungen des Myosins anzupassen. Während ich bei Muskelextrakten aus Imagines mit $8 \cdot 10^{-3}$ m ATP-Lösungen arbeitete, verwendete ich bei Extrakten aus Puppen $4 \cdot 10^{-3}$ bis $7 \cdot 10^{-3}$ m ATP-Lösungen. Um nun festzustellen, ob auf Zugabe von verschiedenen ATP-Konzentrationen auch verschiedene ATP-Empfindlichkeiten resultieren, variierte ich die ATP-Konzentrationen an einem Muskel-

Tabelle 2

Viskositätszahlen vor ($Z\eta$) und nach ($Z\eta_{ATP}$) ATP-Zusatz und ATP-Empfindlichkeiten vom 8. Tag nach Diapause bis zur Imago (siehe Text)

Präparat	Versuch	Alter	ATP-Konz.	$Z\eta$	$Z\eta_{ATP}$	ATP-Empf. in %
1		Imago	$8 \cdot 10^{-3}$	1,0764	0,5451	97,6
2		Imago	$8 \cdot 10^{-3}$	0,935	0,455	105,5
3		Imago	$8 \cdot 10^{-3}$	0,9499	0,5037	88,75
4	A	Imago	$8 \cdot 10^{-3}$	0,686	0,3178	116,8
Mittel		**Imago**				**102,16**
4	B	Imago	$6 \cdot 10^{-3}$	0,678	0,3158	112,8
	C	Imago	$4 \cdot 10^{-3}$	0,678	0,321	108,0
	D	Imago	$3 \cdot 10^{-3}$	0,6739	0,3312	103,6
	E	Imago	$2 \cdot 10^{-3}$	0,678	0,338	100,5
5	A	15	$4 \cdot 10^{-3}$	0,5497	0,299	84,0
	B	15	$9 \cdot 10^{-3}$	0,5773	0,3128	84,6
6		15	$7 \cdot 10^{-3}$	0,7636	0,4094	86,6
Mittel		**15**				**85,06**
7		12	$9 \cdot 10^{-3}$	0,5658	0,345	64,0
8		12	$4 \cdot 10^{-3}$	0,5658	0,3703	52,8
Mittel		**12**				**58,4**
9	A	9	$4 \cdot 10^{-3}$	0,4715	0,4347	8,46
	B	9	$4 \cdot 10^{-3}$	0,4646	0,4117	12,85
10	A	9	$4 \cdot 10^{-3}$	0,5313	0,4761	11,6
	B	9	$4 \cdot 10^{-3}$	0,4876	0,3967	22,9
11		9	$4 \cdot 10^{-3}$	0,598	0,5405	10,62
12		9	$4 \cdot 10^{-3}$	0,7958	0,7107	11,9
Mittel		**9**				**12,9**
13		8	$4 \cdot 10^{-3}$	0,7682	0,7682	0
14		8	$4 \cdot 10^{-3}$	0,6555	0,6554	0
15		8	$4 \cdot 10^{-3}$	0,8924	0,8924	0
Mittel		**8**				**0**

extrakt aus Imagines. Diesem wurden $8 \cdot 10^{-3}$ m, $6 \cdot 10^{-3}$ m, $4 \cdot 10^{-3}$ m, $3 \cdot 10^{-3}$ m und $2 \cdot 10^{-3}$ m ATP-Lösungen zugegeben. Die ATP-Empfindlichkeiten fallen mit geringerer ATP-Konzentration zwar etwas ab, bleiben jedoch im Variationsbereich der für Imagines erhaltenen Werte (siehe Abb. 26). Ein grosser Unterschied besteht dagegen in der Zeit, die gebraucht wird, bis das Myosin die ATP-Mengen gespalten hat und die Viskosität wieder auf den ursprünglichen Wert vor der ATP-Zugabe ansteigt. Die Reduktion

der ATP-Konzentration bei jüngeren Stadien ergibt also keinen wesentlichen methodischen Fehler.

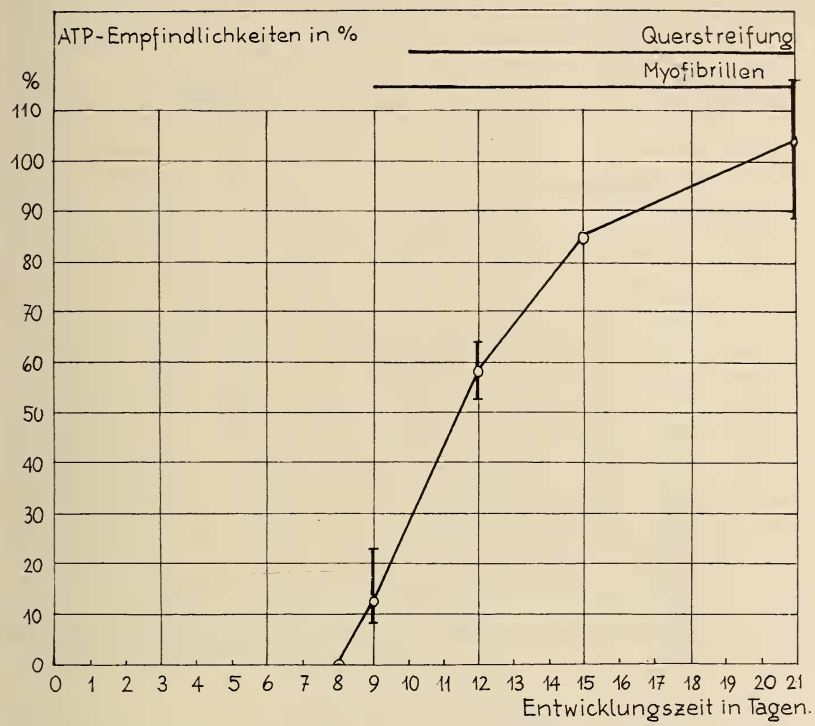

Abb. 25.

Zunahme der ATP-Empfindlichkeit im Verlaufe der Imaginalentwicklung, verglichen mit dem Auftreten von Myofibrillen und Querstreifung.

Nach Weber und Portzehl (1952 *a*) kann man vermuten, dass bei hoher ATP-Empfindlichkeit der Aktomyosingehalt höher ist als bei geringerer ATP-Wirkung. Nach Abbildung 26 kann also wohl der Schluss gezogen werden, dass die Aktomyosinmengen im Verlaufe der Entwicklung zunehmen, jedoch kann die Menge auf Grund der viskosimetrischen Messungen nicht quantitativ erfasst werden. Dies ist nach Dubuisson (1946) nur möglich durch Auswertung der Konzentrationsgradientenkurven in der Ultrazentrifuge und im Tiselius-Apparat. Diese Apparaturen standen mir nicht zur Verfügung.

Dagegen besteht die Möglichkeit, wenigstens den Gesamteiweissgehalt der Muskeln quantitativ zu erfassen, indem deren Stickstoffgehalt bestimmt wird. Die Stickstoffbestimmungen wur-

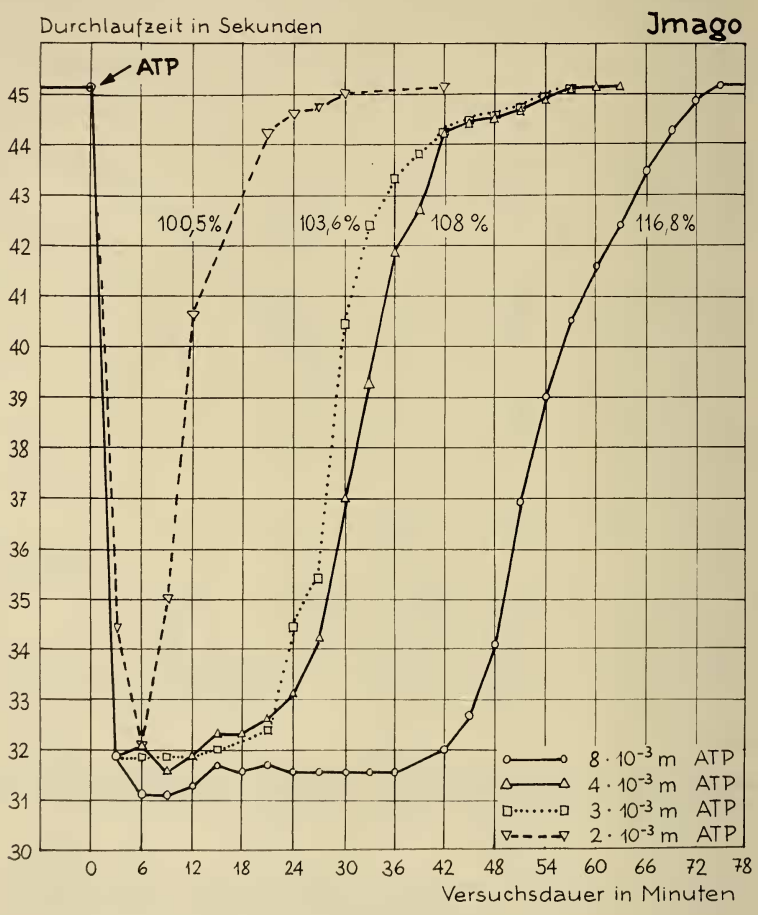

Abb. 26.

Viskositätserniedrigung auf Zusatz von ATP verschiedener Konzentration zum gleichen Muskelextrakt (Imago).

den mit Hilfe eines Nitrogen-Analyzers nach der Micro-Dumas-Methode ausgeführt. Die aus dem Thorax von *A. pernyi* herauspräparierten Muskeln werden zwei Tage lang bei 90° C im Hochvakuum getrocknet, um nachher nach genauer Einwaage im Nitrogen — Analyzer auf den Stickstoffgehalt geprüft zu werden.

Herrn E. Thommen, organisch-chemisches Institut, danke ich für die Ausführung dieser Messungen. In Abbildung 27 sind die Mittelwerte aus je zwei Messungen angegeben. Der Gesamtstickstoffgehalt steigt im Verlaufe der Entwicklung vom 9. Tag bis zur Imago nur

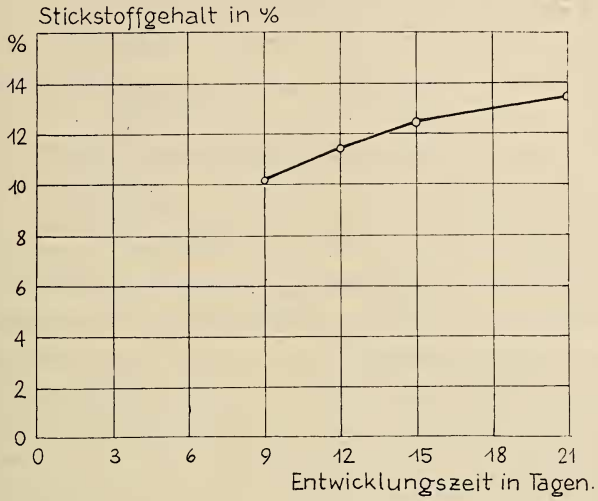

Abb. 27.

Zunahme des Gesamtstickstoffgehaltes im Verlaufe der Entwicklung, bezogen auf das Trockengewicht der Muskeln.

wenig an, von 10,14% auf 13,41%. Vor dem 9. Tag ist eine genaue Bestimmung des N-Gehaltes leider nicht möglich, da die sehr kleinen und hyalinen Muskelfäserchen präparatorisch nicht vollständig vom sehr ausgedehnten Fettkörper getrennt werden können.

Die genannten Stickstoffzahlen betreffen immer den N-Gehalt der Trockensubstanz. Zur Berechnung des Eiweissgehaltes der frischen Muskeln muss aber auch der Wassergehalt berücksichtigt werden. Aus den oben angeführten Gründen beginnen auch dessen Bestimmungen erst mit dem 9. Tag, an dem der Wassergehalt 83,4% beträgt. Im imaginalen Muskel erreicht er nur mehr 72% des Muskelfrischgewichtes. Die Resultate wurden aus drei Tieren pro Entwicklungstag gemittelt.

Berechnet man aus diesen Angaben den Gesamtstickstoffgehalt, bezogen auf das Frischgewicht der Muskeln, so erhält man am 9. Tag einen Wert von 1,683% und bei Imagines 3,754%. Bezogen

auf das Frischgewicht der Muskeln nimmt der Stickstoffgehalt also um mehr als das Doppelte zu. Aus den genannten Werten des Stickstoffgehaltes lässt sich der annähernde Eiweissgehalt errechnen durch Multiplikation mit dem Faktor 6,25. Der Eiweissgehalt beträgt danach am 9. Tag 10,50% des Frischgewichtes der Muskeln und steigt bis zur Imago auf 23,43% an.

C. Diskussion der Ergebnisse

Die Resultate der eigenen Untersuchungen über das Aktomyosin der dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *A. pernyi* seien zunächst mit einigen Angaben von andern Insekten verglichen.

Gilmour und Calaby (1953) untersuchten die physikalischen und enzymatischen Eigenschaften von Aktomyosinen aus Femur- und Thoraxmuskeln von *Locusta migratoria*, wobei sie feststellten, dass die Viskositätszahlen und die ATP-Empfindlichkeiten in Schenkelextrakten grösser waren als in Brustextrakten. Die Autoren erhalten sowohl bei 10-min. Extraktionsdauer als auch bei 24-stündiger Extraktion aus Thoraxmuskeln 92% ATP-Empfindlichkeit. Leider gibt er den Variationsbereich seiner Messungen nicht an. Ein Vergleich mit der bei *A. pernyi* festgestellten ATP-Empfindlichkeit zeigt, dass der *Locusta*-Wert noch im Variationsbereich der *Antheraea*-Muskeln liegt. Die Übereinstimmung beider Insekten kann deshalb als gut bezeichnet werden.

Maruyama (1954) stellt in seinen Untersuchungen über die Veränderung der Aktivität von Aktomyosin — Adenosin — Triphosphatase während der Metamorphose von *Musca domestica* fest, dass zwischen dieser Aktivität und der Muskelfunktion während der Entwicklung der Fliege eine Parallelität besteht. Leider wurden diese Versuche nach der Methode der ATP-Aktivitätsbestimmung durchgeführt, sodass die Werte mit meinen Messungen nicht direkt verglichen werden können.

Um dennoch einen Vergleich zwischen Aktomyosin von Hausfliegen und meinen Schmetterlingen ziehen zu können, untersuchte ich die ATP-Empfindlichkeit der Thoraxmuskeln adulter Fliegen. Nach dem Entfernen von Beinen und Flügeln wurden die Thoraces homogenisiert. Die ATP-Empfindlichkeit dieser Muskeln beträgt im Mittel aus 3 Versuchen ca. 102% (Variation 92,8%-109,5%) und stimmt somit auffällig mit *A. pernyi* überein. Trotz dieser

scheinbar guten Parallele besteht im Actomyosin der beiden Arten offensichtlich ein Unterschied. Während bei Imagines von *Antheraea* eine $8 \cdot 10^{-3}$ m ATP-Lösung genügte, um den Viskositätsabfall während 30 Minuten konstant zu halten (siehe Abb. 24), vermochte diese ATP-Konzentration bei den Extrakten aus Fliegenthoraxmuskeln die Viskosität nur sehr kurzfristig zu erniedrigen. Erst eine $4 \cdot 10^{-2}$ m ATP-Lösung erreichte eine 20 Minuten dauernde Viskositätserniedrigung. Daraus darf mit einiger Vorsicht geschlossen werden, dass Fliegenmuskeln einen höheren Myosingehalt besitzen als die Flugmuskeln von *Antheraea*, da die ATP-ase-Wirkung dieser Muskeln bedeutend höher ist.

Aktomyosin aus Muskelextrakten von *Apis mellifica* wurde von MARUYAMA (1957, 1958) untersucht. Die ATP-Empfindlichkeit der Flugmuskeln der Honigbiene beträgt 135-150% und liegt nach diesen Angaben also etwas höher als jene der entsprechenden Muskulatur von *A. pernyi* (102%). Während die Flugmuskeln der Hymenopteren *(Apis mellifica)* und der Dipteren *(Musca domestica)* „ fibrilläre " Struktur aufweisen, besitzen Lepidopteren *(Antheraea pernyi)* und Orthopteren *(Locusta migratoria)* Flug-Muskelfasern vom Typ „ close-packed " (siehe Seite 819).

Dieser morphologische Unterschied der Flugmuskeln von Hymenopteren und Dipteren gegenüber Muskeln von Lepidopteren und Orthopteren drückt sich auch in der Flügelschlagfrequenz aus.

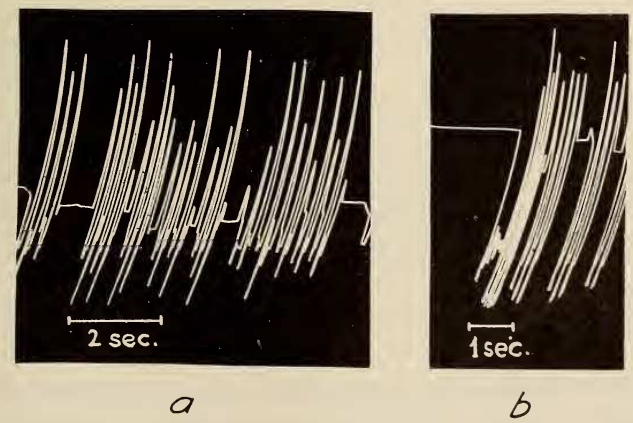

Abb. 28.

Kymogramme zur Berechnung der Flügelschlagfrequenz von *Antheraea pernyi*.
a) 7,6 Schläge/sek. *b)* 9,0 Schläge/sek.

Für *Apis mellifica* gibt SCHRÖDER (1928) 190, für *Musca domestica* 330 und mehr Flügelschläge pro Sekunde an. Dagegen macht *Locusta migratoria* nur 75-91 Flügelschläge pro Sekunde. Dies veranlasste mich, die Flügelschlagfrequenz von *Antheraea pernyi* mit Hilfe eines Kymographen festzustellen.

Der Schmetterling wurde mit einer Drahtbandage so aufgehängt, dass seine Tarsen nach Entfernen der Unterlage frei beweglich waren. Der Flügel wurde ca. 1 cm von der Flügelbasis entfernt um die Costa an einem festen Draht befestigt. Dieser war mit einem Trinkhalm in gelenkiger Verbindung, der seinerseits über eine Nadel als Achse beweglich war. An der Spitze des Trinkhalmes war eine Blechspitze befestigt, die auf das mit Benzolruss geschwärzte Papier des sich konstant drehenden Kymographen die Flügelschläge aufzeichnete. Aus acht Messungen mit 5 verschiedenen Tieren errechnete ich aus dem Kymogramm im Durchschnitt rund acht Flügelschläge pro Sekunde mit Extremwerten von 5,9-9,5 Schlägen/sec. In Abbildung 28 sind zwei Kymogramme dargestellt: Abbildung 28*a* mit 7,6 und Abbildung 28*b* mit 9,0 Schlägen/sec.

In Tabelle 3 sind die morphologischen und physiologischen Angaben von verschiedenen Insekten mit der ATP Empfindlichkeit

TABELLE 3

Vergleich von Muskeltyp, Flügelschlagfrequenz und ATP-Empfindlichkeit verschiedener Insekten

Ordnung	Art	Muskel	Muskeltyp	Flügelschläge pro sek.	ATP-Empf. in %
Hymenoptera	*Apis mellifica* *	Thorax	fibrillär	190	135
Diptera	*Musca domestica*	Thorax	fibrillär	330-396	102
Orthoptera	*Locusta migratoria* **	Thorax	close-packed	75-91	92
Lepidoptera	*Antheraea pernyi*	Thorax	close-packed	8	102

* nach Maruyama (1957)
** nach Gilmour (1953).

verglichen. Daraus kann entnommen werden, dass keine wesentlichen Unterschiede in der ATP-Empfindlichkeit bestehen, trotz der morphologischen und physiologischen Verschiedenheit der Flugmuskeln der einzelnen Insektengruppen.

Auch der Vergleich der ATP-Empfindlichkeit der Flugmuskeln von *Antheraea* mit jener von Kaninchenmuskeln (PORTZEHL, 1950) zeigt ziemlich gute Übereinstimmung zwischen Säuger- und Insektenmuskeln.

Durch die relativ hohe ATP-Empfindlichkeit, die MARUAYMA (1957, 1958) bei Bienen feststellte, die eine Flügelschlagfrequenz von 190/sek. besitzen, könnte man versucht sein, „rasch arbeitenden" Muskeln eine höhere ATP-Empfindlichkeit zuzuschreiben. Diese Ansicht würde durch die Arbeit von GILMOUR (1953) unterstützt, in der für Beinmuskeln von *Locusta migratoria*, die zum Emporschnellen der Heuschrecke sicherlich eine sehr rasche Kontraktion auszuführen vermögen, eine ATP-Empfindlichkeit von 174% angegeben wird. Demnach müsste bei den Dipteren, deren Flügelschlagfrequenz beinahe doppelt so gross ist als die der Hymenopteren, eine sehr hohe ATP- Empfindlichkeit resultieren. Meine Versuche an Thorax-Muskeln von *Musca domestica* ergaben jedoch in dieser Beziehung einen negativen Befund, indem die durchschnittliche ATP-Empfindlichkeit ziemlich genau jener von *A. pernyi* entspricht, die ja nur 8 Flügel-Schläge pro Sekunde macht. Es besteht somit in der ATP-Empfindlichkeit zwischen den „fibrillären" Flugmuskeln mit hoher und den „close-packed"-Muskeln mit bedeutend geringerer Kontraktionsfrequenz kein Unterschied.

9. ZUSAMMENFASSUNG

1. Der dorsolongitudinale Flugmuskel der Imago von *Antheraea pernyi* gliedert sich in die fünf Bündel dl_{1a-e}, die insgesamt 2450 Fasern enthalten. Er ist dem von PRINGLE (1957) als „close-packed" beschriebenen Flugmuskeltyp zuzuordnen. Die im Mittel 44.25 μ dicken Muskelfasern sind durchschnittlich aus 980 Myofibrillen aufgebaut, deren Sarcomeren folgende Anordnung der Querstreifungselemente besitzen: Z-I-N-I-Q-H-Q-I-N-I-Z.

2. Die Muskelanlage der Diapausepuppe erstreckt sich als feiner Schleier von einer Segmentgrenze des Mesothorax zur andern und ist noch nicht deutlich in die fünf imaginalen Bündel gegliedert. Sie besteht aus vielen einzelnen Myoblasten.

3. Die Myoblasten der Muskelanlage entstehen während der Vorpuppenzeit aus degenerierenden larvalen Muskelfasern. Sie lösen sich portionenweise von diesen los und scharen sich zur Anlage zusammen.

4. Aus der Anlage der dorsolongitudinalen Flugmuskeln entstehen bis zum 4. Tag die klar voneinander getrennten fünf Bündel dl_{1a-e}, die bis zum 9. Tag ihre endgültige Lage im Thorax erreichen und bis zum Schlüpftag ständig an Umfang zunehmen.

5. In der histologischen Entwicklung der Flugmuskeln werden fünf Phasen unterschieden:

I. Die Anlage des Muskelgewebes aus Myoblasten (1.-2. Tag).

II. Bildung der Muskelfasern (3.-8. Tag).

III. Bildung der 1. Myofibrillen (8.-9. Tag).

IV. Entstehung der Querstreifung (10.-13. Tag).

V. Dickenwachstum der Muskelfasern (13.-21. Tag).

6. Die Frühentwicklung der Flugmuskeln bis zum 7. Tag verläuft bei Tieren mit eingeschalteter Diapause nicht gleich wie bei Tieren ohne Diapause. In Diapausetieren sind sämtliche larvalen Muskeln abgebaut und die Entwicklung beginnt mit der Imaginalanlage. Bei der Metamorphose ohne Diapause werden bis zum 4. Tag nach Verpuppung noch larvale Muskeln abgebaut. Der Aufbau der Anlage der imaginalen Muskulatur beginnt bei beiden schon in der Vorpuppe.

7. Aktomyosin wird im Verlaufe der Muskelentwicklung von *A. pernyi* qualitativ nachgewiesen. Das kontraktile Muskelprotein tritt erstmals am 9. Tag in nachweisbaren Mengen auf, gleichzeitig mit dem ersten Erscheinen von Myofibrillen und kurz vor ihrer Querstreifung.

8. Stickstoffgehalt und Wassergehalt im Verlaufe der Muskelentwicklung werden bestimmt. Der Stickstoffgehalt beträgt bei Imagines 13,4%, bei Puppen am 9. Tag 10,1% des Trockengewichtes. Die entsprechenden Werte des Wassergehaltes sind 72% bei Imagines und 83,4% bei Puppen am 9. Tag. Bezogen auf das Frischgewicht der Muskeln steigt der Stickstoffgehalt von 1,683% am

9. Tag auf 3,754% bei Imagines, der Eiweissgehalt also von 10,5% auf 23,4%.

9. Trotz der Unterschiede der Insektenflugmuskeln, die sich morphologisch in verschiedenen Typen („close-packed" und „fibrillär") und physiologisch in verschiedener Flügelschlagfrequenz äussern, stimmen die ATP-Empfindlichkeiten gut überein.

RÉSUMÉ

Le muscle dorsal longitudinal du mésothorax d'*Antheraea pernyi* (Saturniidae, Lep.) se partage en cinq faisceaux ($IIdl_{1a-e}$) comprenant en tout 2450 fibres en moyenne. Son ébauche chez la pupe en diapause se présente comme un voile léger s'étendant d'une extrémité à l'autre du segment, sa structure imaginale n'est pas encore distincte. L'ébauche consiste en nombreux myoblastes qui proviennent chez la prépupe des fibres musculaires larvaires dégénérées. La différenciation du muscle alaire pendant les 21 jours du développement imaginal peut être partagée histologiquement en 5 phases qui sont:

I. Ebauche du tissu musculaire sous forme de myoblastes (1-2 jours)

II. Formation des fibres musculaires (3-8 jours)

III. Formation des premières myofibrilles (8-9 jours)

IV. Apparition des stries transversales (10-13 jours)

V. Croissance en épaisseur des fibres musculaires (13-21 jours).

La deuxième partie du travail établit qualitativement l'apparition de l'actomyosine au cours du développement du muscle selon la méthode de Portzehl. Cette protéine contractile peut être décelée à partir du 9e jour de la métamorphose, en même temps qu'apparaissent les myofibrilles et peu avant leur striation transversale. La teneur en azote et en eau au cours de la formation a été déterminée.

Rapportée au poids du muscle frais, la teneur en azote passe de 1,68% le 9e jour à 3,75% chez l'imago. La teneur en albumine s'élève aussi d'environ 10,5% à 23,4%.

SUMMARY

The dorsal mesothoracic longitudinal muscle of *Antheraea pernyi* (Saturniidae, Lep.) is split into five bundles ($IIdl_{1a-e}$) comprising altogether about 2450 fibres. Its anlage in the diapausing pupa appears as a light veil extending right across the segment; its imaginal structure is still indistinct. The anlage consists of numerous myoblasts which originate in the pre-pupa from degenerate larval muscles. Differentiation of wing muscle during the 21 days of the imaginal development can be divided into 5 histological phases:

I. Anlage of muscular tissue in the form of myoblasts (1-2 days)
II. Formation of muscle fibres (3-8 days)
III. Formation of the first myofibrillae (8-9 days)
IV. Appearance of the transverse striae (10-13 days)
V. Thickening of the muscle-fibres (13-21 days)

The second part of this paper deals qualitatively with the appearance of actomyosin during muscle development by the method of Portzehl. This contractil protein can be distinguished from the 9th day of metamorphosis at the same time as appear the myofibrils and before the appearance of striation. Nitrogen and water-contents during muscle-formation have been determined.

By comparison with fresh muscle, the nitrogen content passes from 1,68% on the 9th day to 3,75% in the imago and the protein-content also increases from about 10,5% to 23,4%.

10. LITERATURVERZEICHNIS

Bargmann, W. (1948) *Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen I : Zellen und Gewebelehre.* Georg Thieme, Stuttgart.

Blaustein, W. (1936) *Histologische Untersuchungen über die Metamorphose der Mehlmotte Ephestia kühniella Zeller*, Z. Morph. u. Oekol. Tiere: 30, 333-354.

Breed, R. R. (1903) *The changes which occur in the muscles of a beetle. Thymalus marginicollis Chevr., during metamorphosis.* Bull. of the Museum of comp. Zool.: 40, 317-382.

Bücher, O. (1959) *Die Amitose der tierischen und menschlichen Zelle.* Protoplasmatologia, Handbuch der Protoplasmaforschung VI, E 1. Springer-Verlag, Wien.

DUBUISSON, M. (1946) *Différenciation électrophorétique de myosines dans les muscles au repos et fatigués, de Mammifères et de Mollusques.* Experientia: 2, 258-259.

EDWARDS, G., P. SANTOS, H. SANTOS, P. SAWAYA (1954) *Electron microscopic studies of insect muscle I. Flight and coxal muscle of Hydrophilus piceus.* Ann. Entomol. soc. of America: 47, 343-367.

GILMOUR, D. (1961) *The biochemistry of insects.* Acad. press, New York and London.

— and J. H. CALABY (1953) *Physical and enzymic properties of actomyosins from the femoral and thoracic muscles of insects.* Enzymologia: 16, 23-33.

GODLEWSKI, E. (1902) *Die Entwicklung des Skelett- und Herzmuskelgewebes der Säugetiere.* Arch. f. mikrosk. Anat.: 60, 11-156.

HÄGGQVIST, G. (1931) *Gewebe und Systeme der Muskulatur.* Handbuch der mikrosk. Anat. d. Menschen 2³, Springer, Berlin.

HANSON, J. (1956) *Studies on the cross-striation of the indirect flight myofibrile of the blowfly Calliphora.* J. Biophys. and Biochem. Cytol.: 2, 691-709.

HEIDENHAIN, M. (1913) *Über die Entstehung der quergestreiften Muskelsubstanz bei der Forelle.* Arch. f. mikrosk. Anat.: 83, 427-447.

HUFNAGEL, A. (1918) *Recherches histologiques sur la métamorphose d'un lépidoptère (Hyponomeuta padella L.).* Arch. Zool. exptl.: 57, 47-202.

HUXLEY, H. and J. HANSON (1954) *Changes in the cross-striation of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation.* Nature: 173, 973-976.

JORDAN, H. E. (1920) *Studies in striped muscle structure. The development of the sarcostyle of the wing muscle of the wasp.* Anat. Rec.: 19, 97-123.

LEES, A. D. (1955) *The physiology of diapause in arthropods.* Cambridge Univ. Press.

MARUYAMA, K. (1954) *The activity change of Actomyosinadenosinetriphosphatase during insect metamorphosis.* Biochim. et Biophys. acta: 14, 284-285.

— (1957) *Interaction between ATP and Actomyosins from honeybee muscles during pupal development.* Ztschr. f. vergl. Physiol.: 40, 451-453.

— (1958) *Interaction of insect Actomyosin with Adenosinetriphosphate.* J. cellul. and compar. physiol.: 51, 173-187.

MLODOWSKA, J. (1908) *Zur Histogenese der Skelettmuskeln.* Anz. Akad. Krakau, math. natr. Ke. 145-171.

v. MÖLLENDORFF, W. (1933) *Lehrbuch der Histologie.* 23. Aufl., Fischer, Jena.

Moscona, A. (1955) *Cytoplasmatic granules.* Exptl. cell. res.: 9, 377-380.

Nüesch, H. (1952) *Über den Einfluss der Nerven auf die Muskelentwicklung bei Telea polyphemus.* Rev. Suisse Zool.: 59, 294-301.

— (1953) *The morphology of the thorax of telea polyphemus (Lepidoptera).* J. morphol.: 93, 589-609.

— (1954) *Segmentierung und Muskelinnervation bei Telea polyphemus.* Rev. Suisse Zool.: 61, 420-428.

— (1955) *Das thorakale Nervenmuskelsystem der Puppe von Telea polyphemus.* Rev. Suisse Zool. 62, 211-218.

— (1957*a*) *Die Morphologie des Thorax von Telea polyphemus.* Zool. Jb. (Anat.): 75, 615-642.

— (1957*b*) *Über die Bedeutung des Nervensystems für die Entwicklung anderer Organe.* Verh. Naturforsch. Ges. Basel: 68, 194-216.

— (1962) *Zur Entwicklung der Muskelfunktion.* Verh. Naturforsch. Ges. Basel: 73, 352-353.

— (1965) *Die Imaginalentwicklung von Antheraea polyphemus Cr.* (Lepidoptera). Zool. Jb. Anat. 82,393-418.

Pérez, Ch. (1910) *Métamorphose des muscides (Calliphora erythrocephala Mg.).* Arch. Zool. exptl.: 5, Série 4, 1-266.

Portzehl, H., G. Schramm und H. H. Weber (1950) *Aktomyosin und seine Komponenten.* Ztschr. f. Naturforsch.: 5 b, 61-74.

Pringle, J. W. S. (1957) *The insect flight.* Cambridge Univ. Press.

Reichel, H. (1960) *Muskelphysiologie*, Springer-Verlag, Berlin.

Roeder, K. D. (1951) *Movements of the thorax and potential changes in the thoracic muscles of insects during flight.* Biol. Bull.: 100, 95-106.

Schröder, Ch. (1928) *Handbuch der Entomologie.* Fischer, Jena.

Tello, J. F. (1922) *Die Entstehung der motorischen und sensiblen Nervenendigungen.* Ztschr. f. Anat. und Entw. gesch.: 64, 365-390.

Tiegs, O. W. (1955) *The flight muscles of insects.* Philosoph. Trans. roy. sci.: 238, 221-345.

Weber, H. und H. Portzehl (1952*a*) *Muscle contraction and fibrous muscle proteins.* Adv. protein chem.: 7, 162-246,

— (1952*b*) *Kontraktion, ATP-Cyclus und fibrilläre Proteine des Muskels.* Ergebn. Physiol.: 47, 369-468.

Weed, I. (1937) *Cytological studies of developing muscle, with special reference to myofibrils, mitochondria, Golgi material and nuclei.* Ztschr. f. Zellforsch.: 25, 515-540.

Wigglesworth, V. B. (1953) *The principles of insect physiology.* Methuen, London.